

THÈSE

pour l'obtention du Diplôme de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(Pharmacie)

présentée et soutenue le 22 Juillet 1958

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES AGENTS DE SOLUBILISATION
EN PHARMACODYNAMIE CELLULAIRE**

**ACTION D'ALCOOLS ET DE MOUILLANTS
SUR LA CELLULE VÉGÉTALE**

par

TRAN-TAN-THONG

C. E. S. de Sérologie

MEMBRES DU JURY

MM. P. CRÉTÉ..... *Président*
A. QUEVAUVILLER.. *Professeur*
G. DEYSSON..... *Maître de Conférences*

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM. René FABRE, Doyen, C. ✱, ✎ C., Membre de l'Institut.
 G. CUVIER, Secrétaire Général, ✱, ✎ I.
 MM. JEANDEL, Secrétaire, ✎ I.; QUILLIOT, Rédacteur.
 M^{me} ESPINASSE, Rédactrice, ✎ I.; M^{lle} DENNY, Rédactrice; M^{lle} BERIL, Rédactrice.
 M^{me} CELLIER, Commis, ✎ A.; M^{lle} MORIN, Commis, ✎ A.; M^{lle} BIDEAU, Commis;
 M^{me} CARON, Commis.

PROFESSEURS

MM. FABRE, C. ✱, ✎ C., Membre de l'Institut.	Toxicologie.
N...	Pharmacie chimique.
DOMANGE, O. ✱, ✎ I.	Chimie minérale.
CRETE, O. ✱, ✎ I.	Botanique.
JANOT, ✱, ✎ I.	Pharmacie galénique.
VALETTE, ✱, ✎ I.	Pharmacodynamie.
BEDEL, ✱, ✎ I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
PARIS, ✱, ✎ I.	Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
GUILLLOT, ✱, ✎ I.	Physique.
GAUTIER, ✱, ✎ I.	Chimie analytique.
M ^{lle} LAMBIN, ✱, ✎ I.	Microbiologie.
MM. RAOUL, ✎ I.	Zoologie appliquée.
COURTOIS, ✱, ✎ I.	Chimie biologique.
N...	Hygiène et Hydrologie.
N...	Chimie organique.
MORETTE, ✱, ✎ I.	Professeur à titre personnel.
TRUHAUT, ✱, ✎ I.	Professeur à titre personnel.
CAVIER, ✎ I.	Professeur à titre personnel.
MOREAU, ✱, ✎ I.	Professeur sans chaire.
GUY, ✎ A.	Professeur sans chaire.
GERMAN, ✎ A.	Professeur sans chaire.

Doyen Honoraire : M. RADAIS, C. ✱, ✎ I.

Professeurs honoraires : MM. DELEPINE, C. ✱, ✎ I.; LEBEAU, C. ✱, ✎ I., Membres de l'Institut.
 HERISSEY, C. ✱, ✎ I.; LAUNOY, C. ✱, ✎ I.; FLEURY, O. ✱, ✎ I.; MASCRE, O. ✱, ✎ I.;
 PICON, O. ✱, ✎ I.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. PIETTE, ✎ A.	Sciences Naturelles.
QUEVAUVILLER, ✎ A.	Sciences Naturelles.
DAMIENS...	Sciences Physiques et Chimiques.
DEYSSON, ✎ A.	Sciences Naturelles.
MALANGEAU, ✎ A.	Sciences Appliquées.
FLAHAUT...	Sciences Physiques et Chimiques.
RENAULT J.	Sciences Physiques et Chimiques.



CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. BORY	Sérologie.
BOURDON	Chimie analytique (1 ^{re} Année).
CORRIEZ, ✎ I.	Physique.
DESVIGNES	Microbiologie.
HARISPE, ✎ A.	Chimie générale et pharmaceutique.
LECLERC	Chimie biologique.
M ^{lle} LONGUEVALLE, ✎ I.	Service des Examens de Chimie.
MM. MANGEOT, ✎ A.	Chimie (4 ^e Année).
PELLERIN	Chimie analytique (2 ^e /3 ^e Années).
RENAULT, H., ✎ A.	Chimie analytique (2 ^e /3 ^e Années).
SAVEL	Parasitologie.
M ^{lle} ROLLEN, ✱, ✎ A.	Biologie végétale.

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

MM. GOUTAREL, ✎ A.	Chef de Travaux de Pharmacotechnie galénique.
M ^{lle} MORIN, ✎ A.	Chef de Travaux de Pharmacodynamie.
M. LUSINCHI	Chef de Travaux de Pharmacotechnie chimique.

BIBLIOTHÈQUE

Conservateur : M. GARNIER, ✱, ✎ I.
 Bibliothécaires : M^{lle} LAVAUD, ✎ I.; M^{me} KREHMER, ✎ A.; M^{me} DESGRIPPES, ✎ A.

A ma mère

dont les immenses sacrifices ne sont pas vains,
en témoignage de ma profonde affection.

A Monsieur le Professeur P. CRETE

qui m'a fait l'honneur de présider le jury
de cette thèse,
en témoignage de mon profond respect

A Monsieur le Professeur A. QUEVAUVILLER

qui a accepté de juger ce travail,
en témoignage de ma respectueuse gratitude.

A Monsieur G. DEYSSON, Maître de Conférences,

qui m'a fait l'honneur de me proposer ce travail
et qui m'a guidé dans mes recherches,
en témoignage de ma profonde reconnaissance.

Avant d'aborder l'exposé de nos recherches, nous tenons à exprimer notre respectueuse reconnaissance à Monsieur le Professeur M. MASCRÉ qui a bien voulu nous accueillir dans son laboratoire.

Qu'il nous soit permis d'adresser à Monsieur G. DILLEMANN, Maître de Conférences, nos remerciements respectueux pour les précieux conseils qu'il nous a donnés en diverses circonstances ; et nous remercions également pour son précieux concours Mademoiselle O-M. BLANPIN, assistante de la chaire d'Hygiène.

A mes maîtres de la Faculté

A tous ceux qui me sont chers



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547106_0047

AVANT-PROPOS

Monsieur G. DEYSSON nous ayant révélé que les expériences portant sur du matériel végétal ne peuvent pas toujours être menées à bien en Pharmacodynamie cellulaire du fait de l'insolubilité dans l'eau de certaines substances, nous avons jugé utile de vérifier si les recherches ne pouvaient pas être effectuées en employant des agents de solubilisation autres que l'eau. Des travaux portant sur ces questions avaient été entrepris déjà par de nombreux auteurs mais n'avaient pas jusqu'à présent permis d'aboutir à des conclusions d'ensemble .

Grâce aux conseils bienveillants de Monsieur DEYSSON, nous avons examiné les divers aspects de ce problème.

Nous avons exposé tout d'abord les raisons qui nous ont guidé dans le choix d'une technique d'étude et du matériel végétal à expérimenter.

Par l'étude de divers alcools et de mouillants, nous nous sommes efforcé, dans chaque cas, de mettre en évidence la modalité d'action et de déterminer les concentrations limites pouvant être utilisées.

Nous avons également enregistré les résultats obtenus par des travaux relatifs à l'activité de diverses associations de mouillants.

Enfin, nous avons appliqué les résultats de ces recherches à l'étude de diverses substances réputées insolubles et nous avons pu, de la sorte, mettre en évidence l'action de certains corps jusqu'alors non étudiés à cause de leur insolubilité.

substances en suspension. Ceci, facile à comprendre pour les cellules animales nues, paraît plus difficile pour les cellules végétales, entourées d'une membrane cellulosique imbibée par l'eau ; cependant on connaît l'existence d'une certaine quantité de cires déjà dans la membrane primaire.

Cependant, même dans le cas où un composé insoluble est actif, il est impossible de maintenir une concentration connue de ce composé au contact des cellules . Il paraît donc nécessaire de faire agir des composés uniformément répartis dans le milieu liquide d'expérience soit par solution dans un solvant approprié soit par émulsion à l'aide de certains adjuvants convenables.

Exemple : E. Friedmann et I. Simon-Reuss (29) ont proposé l'ester monoéthylique d'éthylène-glycol (à une dilution convenable) additionné d'un volume égal d'une solution à 2 % de "gummi-ghatti" destiné à l'étude de l'action des substances insolubles dans l'eau sur les cultures de tissus.

Quels sont les agents de solubilisation susceptibles d'être utilisés ? Une étude bibliographique montre que de nombreux solvants organiques, auxquels on pourrait penser, sont plus ou moins fortement toxiques pour la cellule. N'ayant pas la prétention de présenter une liste complète des travaux ayant trait à l'ensemble des solvants organiques , nous nous contentons de citer brièvement quelques uns d'entr'eux, se rapportant aux solvants les plus couramment utilisés.

a) Le chloroforme

L'action du chloroforme sur la cellule a fait l'objet de nombreuses études par divers auteurs :

Nemec (65), P. Gavaudan (31-32), G. Ostergren (68), P. Sentein (82), F. Steinegger et A. Levan (89), G. Deysson (21), R. Buvat et H. Tuchmann-Duplessis (8), Craveri (14) , etc ... Ceux-ci, dans l'ensemble, lui ont trouvé une toxicité certaine et une action mitoclasique.

Nemec (65) en 1910, a déjà décrit l'action du chloroforme sur le déroulement de la caryocinèse chez les végétaux et il a comparé les différentes anomalies observées à celles que l'on rencontre chez les hybrides.

Craveri (14) a trouvé que des concentrations élevées de solvants organiques peuvent modifier le résultat des épreuves de l'action des antibiotiques sur la croissance de s plantes soit sur les microorganismes, soit directement sur la plante .

Gavaudan (31-32), dans une étude de l'action mitoclasique de cette substance sur les méristèmes radiculaires du blé , a obtenu les résultats suivants : une solution à 0,1 % provoque en 3 heures 30 des tropocinèses, de nombreuses cinèses à ponts chromosomiques ou pluripolaires alors qu'une solution à 0,05 % fait apparaître dans le même temps presque exclusivement des tropocinèses.

A. Ber et Z. Moskwa (6), dans une étude sur l'influence des solvants organiques (les

alcools, le chloroforme, le benzène, l'éther, l'éther de pétrole, l'acétone) sur la croissance des tiges d'Avoine, ont conclu que les concentrations élevées de solvants sont très toxiques et provoquent une inhibition marquée de la germination et de la croissance des tiges ; que les dilutions moyennes n'ont aucune influence et que les grandes dilutions ont une nette action stimulante portant à la fois sur le nombre de tiges, la hauteur et le poids des pousses.

G. Ostergren (68) lui a trouvé une action stathmocinétisante certaine.

Steinegger et Levan (89) travaillant sur une série de concentrations allant de la solution saturée (1 % en poids) à la solution de 0,005 %, ont trouvé :

- aux concentrations de 1 à 0,5 % une action létale précoce suivie d'une chromatolyse ;

- aux concentrations de 0,25 à 0,1 % une agglutination chromosomique (stickiness) de mitoses du type colchicinique ;

- aux concentrations de 0,05 à 0,025 % des mitoses de type colchicinique encore mais d'une intensité moindre (il en est de même pour la concentration de 0,01 %) et des tuméfactions subterminales ;

- aux concentrations inférieures une turgescence des racines seulement.

G. Deysson (21) a obtenu avec la solution saturée de chloroforme, diluée au quart :

- dès les premières heures, une inhibition de tout allongement cellulaire (aucune tuméfaction subterminale des racines n'est observée) ;

- en 24 heures, une action mito-dépressive sévère, accompagnée d'une action toxique non négligeable (pynoses partielles) et d'une action stathmocinétisante quasi totale sur les cinèses ;

- en 48 heures, une disparition totale des mitoses .

La solution saturée, diluée au 1/10, toujours d'après cet auteur, possède une action mito-dépressive précoce qui s'accroît intensément à partir du 3ème jour de traitement, une action mitoclasique après 24 heures. G. Deysson conclut que le chloroforme est susceptible d'exercer une action stathmocinétisante totale mais dans des conditions très voisines de conditions létales, dans lesquelles l'action mito-dépressive est déjà intense ; qu'à une concentration plus faible, l'action mito-dépressive se manifeste bien avant l'action mitoclasique et que dans de telles conditions on observe un effet tropocinétisant certain, pouvant atteindre 30 % des cinèses .

b) L'éther

L'action de l'oxyde d'éthyle sur la caryocinèse des cellules animales a fait l'objet de divers travaux dont certains sont déjà anciens : Haecker (36) en 1900, Wilson (92) en 1901, Schiller (81) en 1909, Rosenfeld (80) en 1932 et I. Cornman (12) en 1944. Tous ces

auteurs travaillant sur des sujets d'expérience variés (oeufs d'oursin pour Wilson, oeufs de cyclop pour Haecker et Schiller, cultures de fibroblastes pour Rosenfeld et oeufs de drosophile pour Cornman) ont fait état des troubles causés par cette substance : chromosomes retardataires ou fuseaux multipolaires souvent associés à la polyploïdie.

Sur la cellule végétale, G. Ostergren (68) sur l'oignon, Gavaudan (31-32) sur les méristèmes de blé, ont étudié l'action mitoclasique de l'éther.

Ber et Moskwa (6) lui ont trouvé une action inhibitrice de la croissance des plantules d'avoine aux fortes concentrations.

Craveri (14) a signalé que les solvants organiques qui interfèrent le moins avec l'action des antibiotiques sur la croissance des plantes sont : l'éther, l'éther de pétrole, etc ...

G. Deysson (21) après une étude sur l'oignon à l'aide des dilutions de 1/10 et 1/20 de la solution saturée, a conclu que l'action mitoclasique de l'éther s'accompagne d'une action mito-dépressive intense puisque la concentration de 1 %, encore peu mitoclasique, provoque la disparition complète des cinèses le 2^e jour. Cette disparition de cinèses est précédée d'une période d'accumulation de toutes les phases, sans modification de leurs proportions relatives ; enfin l'éther provoque une légère tuméfaction subterminale des racines dans des conditions où son action mitoclasique est encore pratiquement nulle.

c) Le benzène

L'action du benzène sur la cellule végétale a fait l'objet d'études détaillées rapportées dans le mémoire de Meitès (59) et dans celui de Gavaudan (32).

Meitès, étudiant l'action du benzène sur les méristèmes radiculaires de *Lupinus Albus* L. et d'*Allium sativum* L., a trouvé que ce composé engendre deux séries de modifications, les unes réversibles, les autres irréversibles lorsque les racines sont replacées dans un milieu normal. Sont susceptibles de réversibilité : la vacuolisation du cytoplasme, la granulisation des chondriocentes et les différentes anomalies mitotiques ; sont irréversibles : la plasmolyse, la lipophanérose, la pycnose des noyaux et l'agglutination des chondriosomes en sphérules, ce dernier stade permet de définir avec précision la mort de la cellule. Meitès a montré que l'action mitoclasique du benzène est très peu marquée sur le lupin et par contre plus nette sur l'ail.

Gavaudan a observé sur le blé des mérostathmocinèses avec une solution saturée de benzène diluée au 1/6 après 4 heures de traitement.

G. Ostergren (68), S. Carpentier et A. Paccault (9) ont rangé le benzène parmi les substances possédant une action mitoclasique.

P. Lamardelle (48) se servait du benzène pour provoquer le ralentissement de la prophase afin d'étudier les relations entre les nucléoles et les chromosomes sur le blé.

P. Seutein (82) travaillant sur la segmentation de l'oeuf de triton a signalé que le

benzène en solution saturée dépolarise noyaux et mitoses.

d) L'éther de pétrole et l'acétone

Peu de données nous sont fournies ici par l'étude bibliographique.

Nous pouvons rappeler les travaux de Ber et Moskwa (6) et de Craveri (14) cités aux précédents paragraphes.

Ber et Moskwa ont signalé qu'à une certaine dilution l'éther de pétrole a parmi les nombreuses substances étudiées la plus grande activité stimulante de la croissance des plantules d'avoine. Craveri a conclu à une faible interférence de l'action de l'éther de pétrole avec celle des antibiotiques sur la croissance des plantes.

Selon G. Ostergren (68), l'acétone possède avec un grand nombre de composés, une action mitoclasique certaine.

e) Les alcools

1. L'alcool éthylique

D'après d'assez nombreux travaux dont nous parlerons plus loin, semble pouvoir être utilisé à de faibles concentrations.

2. Homologues

De nombreux auteurs ont entrepris des travaux sur l'action des divers alcools sur la cellule végétale et ils ont trouvé selon les composés et les concentrations mises en oeuvre une toxicité, une action soit dépressive sur la croissance ou sur l'activité mitotique, soit mitostatique, soit mitoclasique, soit chromotoclasique.

Yamaha (93) a signalé que les alcools méthylique, éthylique, butylique, amylique, provoquent selon les concentrations des ponts anaphasiques, des mitoses tripolaires, la formation des caryomères.

G. Ostergren (68) a publié une liste de produits possédant une activité mitoclasique certaine parmi lesquels nous relevons : les alcools méthylique, éthylique, tribromo-éthylique, n. propylique, n. butylique, isobutylique, butylique tertiaire, trichlorobutyrique tertiaire (chlorbutol), isoamylique, amylique tertiaire, n. octylique ...

H. Poussel (74), étudiant le mécanisme de l'action toxique des alcools (méthylique, butylique, propylique, butylique), a observé des anomalies de caryocinèse et de cytodierèse.

A. Rollen (77-78) a conclu, après des études sur l'alcool iso-amylique et l'alcool octylique primaire (octanol), à une activité assez comparable de ces deux corps : activité mito-dépressive et mitostatique inhibant l'entrée en cinèse (entre autres anomalies signalées) pour des concentrations assez faibles.

Ber et Moskwa (6), travaillant sur une série de solvants organiques (parmi lesquels l'alcool éthylique, l'alcool butylique et l'alcool amylique) a trouvé que l'alcool amylique est parmi les corps utilisés le plus inhibiteur de la croissance.

Craveri (14) a signalé dans son mémoire que l'alcool amylique peut (avec un certain nombre de composés) modifier à des concentrations élevées, les résultats de l'action des antibiotiques sur la croissance des plantes en agissant sur les microorganismes.

En résumé, il semble que l'on puisse retenir comme solvant utilisable l'alcool éthylique et d'autre part on remarque que les polyols ont été peu étudiés. (Ostergren (69), F. d'Amato (4)) et que parmi eux des composés, comme le glycérol, semblent très peu actifs (Ostergren).

Nous étudierons donc des glycols dont le pouvoir dissolvant est fréquemment mis à profit et le glycérol.

f) Les mouillants.

Une autre catégorie d'agents de solubilisation d'utilisation plus récente constitue ce qu'on appelle les mouillants.

Il semble, d'après certains travaux (G.W. Kidder, V.C. Dewey et H. Heinrich (42), V. Engler (27), E. Neuzil (66), A. Mirimanoff (61), G. Dastugue et M. Boulonnais (15 - 16), etc ...) que certains d'entre eux au moins, puissent être bien supportés par la cellule et soient donc susceptibles de convenir au but recherché.

En conclusion, nous retenons les différents corps suivants pour notre étude :

A) Catégorie des alcools : Alcool éthylique,
Ethylène-glycol,
Propylène-glycol,
Glycérol.

B) Catégorie des mouillants: Tween 80
Laurylsulfonate Na
"Céquartyl.A "

Chapitre II

PLAN de l'ETUDE d'un COMPOSE :

- Techniques utilisées
- Expression des résultats

Notre méthode d'étude de l'action d'un composé repose sur trois séries d'expériences intéressant trois espèces végétales différentes, à savoir le Blé (*Triticum vulgare* L.) , le Pois (*Pisum sativum* L.) et l'Ail (*Allium sativum* L.) L'utilisation de chacune des trois espèces citées correspond à un but distinct et leur choix est dû aux commodités particulières qu'elles nous offrent. En effet, nous avons choisi le Blé pour étudier l'influence des composés sur la germination et sur la croissance des tigelles et des racinelles, le Pois pour observer d'une façon plus précise leur action sur la croissance de la racine de la plantule, enfin l'Ail pour une étude cytologique détaillée.

I - Influence sur la germination

Les grains de semences de Blé (*Triticum vulgare* L.) sont utilisés ici.

Les raisons qui nous conduisent à choisir cette céréale comme matériel expérimental sont les suivantes : les grains, de petites dimensions, nous permettent l'utilisation simultanée d'une grande quantité (100 grains pour chacune de nos expériences), ceci dans le but d'éviter l'influence des variations individuelles dans les résultats obtenus. Leur faible masse ne nécessite pas un récipient volumineux et de ce fait, la quantité de liquide mise en oeuvre est très faible (10 ml pour chaque essai). Cependant l'utilisation de toute autre semence de faible volume de céréales (sarrasin, orge, avoine, etc ...) est aussi valable.

Nous trions les grains de Blé pour avoir un lot homogène et nous rejetons tout grain avarié ou d'aspect grêle. Nous disposons, pour chaque expérience, 100 grains dans une boîte de Pétri dont le fond est garni d'un double de papier filtre. Un lot témoin est nécessaire dans chaque série. Nous versons 10 ml de chaque concentration du corps à étudier en solution dans le liquide de Knop (1) dilué au demi ; pour le témoin 10 ml de liquide

(1) Toutes les cultures sont effectuées sur liquide de Knop dilué au demi, dont la composition est la suivante :

Nitrate de calcium	0,50 g
Nitrate de potassium	0,125 g
Phosphate monopotassique	0,125 g
Sulfate de magnésium	0,125 g
Chlorure ferrique	traces
Eau distillée	1 litre

de Knop dilué au demi sont utilisés.

Nous portons les récipients dans un thermostat réglé à 20-22° et dont l'atmosphère est saturée d'humidité, et nous les recouvrons d'une cloche de verre. La durée de l'expérience est de 48 heures au bout desquelles nous enregistrons les résultats.

Les mesures, pratiquées sur les lots de grains ainsi traités, comportent d'une part le comptage des grains germés, des grains commençant à germer et des grains non germés, d'autre part, les mesures proprement dites qui consistent à noter les allongements de la tigelle et de la radicelle située dans le prolongement. Les mesures sont faites à partir du point d'intersection de la plantule.

Les résultats ainsi obtenus sont groupés en un tableau et nous permettent de tirer des conclusions sur l'influence exercée par la solution étudiée sur la germination ; ils nous donnent aussi quelques indications sur l'influence exercée sur la croissance des racines et des tiges.

II - Influence sur la croissance

Après les expériences préliminaires sur le Blé, nous poursuivons l'étude de l'influence exercée sur la croissance mais en prenant cette fois-ci le Pois (*Pisum sativum* L.) comme sujet d'expérience.

Notre choix est dicté par les raisons suivantes : les graines de Pois sont d'une taille suffisante pour permettre leur manipulation facile ; leur germination est rapide et, pendant plusieurs jours, la racine principale se développe seule : ce qui rend les mesures de longueur plus faciles. Les graines de toute autre espèce peuvent être également utilisées, à condition d'être de dimension convenable et de fournir une plantule pourvue d'une racine principale. Les racines mises en oeuvre ne doivent, en aucun cas, rencontrer une résistance mécanique pendant leur croissance, sinon on introduit des causes d'erreurs qui faussent les résultats. Cette condition exclut donc toute expérience sur les milieux de culture solides.

Les récipients utilisés sont ici des tubes de Borel ; de petits tubes de verre, qui y sont introduits, servent de support aux plantules de Pois et permettent d'obtenir des racines dont l'allongement est bien rectiligne.

Nous mettons à germer dans des cuves à fond plat, garni de papier filtre ordinaire une quantité de graines de Pois (préalablement triées) supérieure à celle qui sera utilisée ultérieurement de façon à pouvoir obtenir des lots de plantules homogènes. En effet, Duhamet (24), travaillant sur des racines de Lupin et de Carotte estime que " les variations individuelles du développement des racines sont bien connues ; aussi, dans les expériences sur la croissance, est-il nécessaire, pour établir des moyennes ayant une réelle valeur, de trier, avec le plus grand soin, les graines, de ne mettre à germer que des graines ayant sensiblement la même taille, de n'ensemencer que les graines provenant de celles qui ont germé avec la même vitesse et dont les aspects sont comparables ... Enfin, toutes les racines, qui, au début de la culture, marquent un retard sur les autres, doivent être éliminées".

Nous versons alors dans ces récipients une quantité d'eau de conduite suffisante pour avoir l'humidité indispensable à la germination des graines. Ces récipients sont ensuite portés dans un thermostat réglé à 20-22° et dont l'atmosphère est saturée d'humidité. Trois jours plus tard, les plantules sont suffisamment développées pour être utilisées. Nous choisissons alors les plantules possédant des racines de longueur sensiblement égale pour nos expériences. Les racines des plantules ainsi traitées sont introduites dans les petits tubes de verre décrits plus haut.

Le nombre de plantules nécessaire à chaque expérience est de dix ; ce nombre est suffisant grâce à la double sélection qui a été effectuée en se basant sur l'aspect des graines, d'abord, puis sur la longueur des racines, et permet d'opérer sur des lots très homogènes. La quantité de concentration (en solution dans le liquide de Knop dilué au demi) à utiliser dépend uniquement de la contenance des tubes de Borel. Un lot témoin est adjoint à chaque série d'expériences qui sont menées à la température du laboratoire et qui durent 7 jours au maximum.

Nous renouvelons chaque jour les solutions après avoir mesuré les allongements des racines mises en oeuvre. Ce qui nous permet de calculer l'allongement moyen des racines des lots de graines traitées. Ainsi, à la fin de nos expériences, nous pouvons tirer des conclusions précises sur le comportement du composé étudié vis à vis de la croissance des racines de Pois (stimulation ou inhibition).

III - Etude cytologique détaillée

1°) Choix de l'objet et conditions des expériences

Toute notre étude cytologique est effectuée avec des méristèmes radiculaires d'une seule espèce végétale : l'Ail (*Allium sativum* L.).

Les méristèmes des racines constituent en effet un matériel d'étude de choix pour nos recherches car nous y trouvons toujours un grand nombre de cellules en mitose et il est facile de les soumettre, aussi longtemps qu'on le désire, à l'action d'une solution contenant une concentration exactement déterminée du corps à étudier. Il est nécessaire, pour une étude cytologique quantitative, de pouvoir disposer de nombreux lots de racines exactement comparables à tous points de vue : ce qui nous a conduit à écarter l'utilisation des lots de graines qui ne nous offrent pas une garantie absolue à cet égard. Le rejet des lots de graines comme matériel d'expérience est dû à une variation impossible à éviter dans la rapidité de la germination et de la croissance de celles-ci, comme l'ont signalé Duhamet (24), Geiger-Huber et Burlet (34), et surtout Delarge (17-18-19) qui a apporté de nombreux documents quantitatifs à ce sujet.

Nous n'avons pas utilisé le matériel classique constitué par le bulbe d'Oignon (*Allium Cepa* L.) quoique celui-ci possède les mêmes avantages que l'Ail pour les raisons suivantes. Le bulbe d'Oignon ne peut nous fournir au maximum que quatre lots de racines par des sections longitudinales. A la suite du sectionnement, il nous faut d'une part essuyer soigneusement les surfaces formées afin d'éviter l'écoulement du suc dans les solutions mises en oeuvre, d'autre part éliminer les racines lésées par cette opération. Par contre, à partir d'une seule "tête" d'Ail, dont les bulbilles sont nombreuses, sans autre manipulation que celle de l'élimination des téguments, nous sommes facilement en possession d'un plus grand nombre

de lots de racines : ce qui nous permet de mener plusieurs expériences de front.

Les bulbes d'Ail sont mis à germer directement sur le liquide de Knop dilué au demi et ils sont prêts pour les expériences, effectuées à la température du laboratoire, dès que leurs racines atteignent 2 à 3 cm.

Les diverses concentrations du corps à étudier, en solution dans le liquide de Knop dilué au demi, sont renouvelées quotidiennement. L'allongement des racines témoins et des racines en expérience est mesuré chaque jour et l'allongement moyen déterminé : nous ne prélevons en vue de la numération que les racines dont la courbe de croissance est sensiblement égale à la courbe de croissance moyenne, ce qui est la règle générale. Cette technique a également l'avantage d'éviter l'influence des poussées mitotiques qui se produisent normalement : en effet, G. Deysson (21) a constaté, comme l'avait fait Von Moellendorff (64) avec les cultures de tissus animaux, un synchronisme de ces poussées chez les racines traitées et les racines témoins provenant d'un même individu.

2°) Obtention des préparations

La technique à choisir doit nous permettre d'examiner l'état des cinèses dans l'ensemble du méristème.

Le type de techniques par inclusions et coupes ne nous convient pas ici quoiqu'inévitables pour une étude de détail de structure. En effet, cette technique introduit plusieurs causes d'erreurs, comme l'a signalé Guinochet (35) "il est très difficile de faire le départ entre les cellules réellement polynucléées et celles chez lesquelles le noyau multilobé a été sectionné au rasoir" ; elle ne permet pas non plus de conclusions sûres quant à l'existence de fragmentations chromosomiques.

Nous choisissons donc la méthode par dissociation des méristèmes entiers entre lame et lamelle après coloration. En effet, cette méthode est non seulement rapide (véritable méthode "clinique" selon Gavaudan (32)) mais elle nous permet aussi d'étudier les cellules intactes et réunit dans une seule préparation l'ensemble des cellules d'un méristème. Ainsi, nous pouvons donc compter, sans erreur possible, la totalité de cinèses dans un méristème et de repérer la moindre anomalie cytologique, aussi rare soit-elle.

Quant à la coloration, nous utilisons l'orcéine acétique, selon la formule de La Cour (47) en opérant suivant la technique de G. Deysson (21-22).

Les méristèmes à étudier sont plongés directement, sans fixation préalable, dans un mélange extemporané de 10 parties d'une solution renfermant 1% d'orcéine, 45 % d'acide acétique et 44 % d'eau, et d'une partie d'acide chlorhydrique normal. Nous chauffons, ensuite sur une petite flamme, jusqu'à émission de vapeurs sans toutefois atteindre l'ébullition sous peine d'altérer irréversiblement noyaux et chromosomes. Puis nous laissons reposer plusieurs heures en recouvrant d'une plaque de verre pour éviter l'évaporation du colorant.

Le montage des préparations s'obtient de la façon suivante : nous portons un méristème, sur une lame, dans une goutte de colorant, nous recouvrons d'une lamelle et nous

appuyons doucement et régulièrement avec un objet plat : le méristème se dissocie sous cette pression et s'étale en une couche régulière d'épaisseur unicellulaire. Cette technique, d'un maniement un peu plus délicat que celle préconisée par La Cour, permet d'obtenir des colorations plus fines : ce qui est dû à l'action de l'acide chlorhydrique comme l'a montré A. Rollen (76).

Pour conserver les préparations ainsi obtenues, nous les lutons à l'aide du lut de Rondeau du Noyer (79), composé de deux parties de lanoline anhydre et de huit parties de collophane. Nous pouvons ainsi conserver ces préparations, au frigidaire, sans altération pendant plusieurs mois. Pour obtenir une conservation indéfinie, il serait nécessaire de déshydrater la préparation et de la monter dans le Baume du Canada ; mais cette technique présente l'inconvénient d'entraîner inévitablement la perte d'un certain nombre de cellules au cours de la manipulation. C'est pourquoi elle ne convient pas à nos expériences pour lesquelles la conservation de la totalité des cellules est indispensable.

3^e) La numération

a) Terminologie

Nous adoptons la terminologie de G. Deysson (21) qui distingue les quatre stades classiques de la mitose : Prophase, Métaphase, Anaphase et Télaphase. G. Deysson a fait commencer la prophase à l'apparition nette des bandes plus chromophiles dans la trame réticulée ; "nous laissons sans doute de côté les tout premiers débuts de ce stade, mais notre point de départ gagne en précision et lève de la sorte toute ambiguïté d'interprétation". (G. Deysson). La métaphase est caractérisée par la plaque équatoriale ; à l'anaphase, les chromosomes sont toujours répartis en deux groupes nettement individualisés ; enfin sont comptées comme télaphases toutes les figures allant de la contraction des groupes chromosomiques (tassement polaire) à la fin des transformations catachromatiques ; G. Deysson n'a pas inclus dans ce stade les figures où l'origine commune des deux cellules est encore évidente, mais où les noyaux ont déjà l'aspect interphasique. (fig. 1 ci-contre)

Pour les divers types d'anomalies constituant l'action mitoclasique, nous pouvons les rassembler dans les tableaux suivants, en tenant compte surtout des observations de Gavaudan (30-31-32), de Mangenot et Carpentier (57) et de Deysson (21) :

- Caryocinèse normale : orthocinèse (répartition des chromosomes en 2 lots égaux et correctement orientés,

avec hémidiérèse = dysdiérèse (anomalies dans la structure et le nombre des cloisons)

ou stathmodiérèse (absence de cloisonnement).

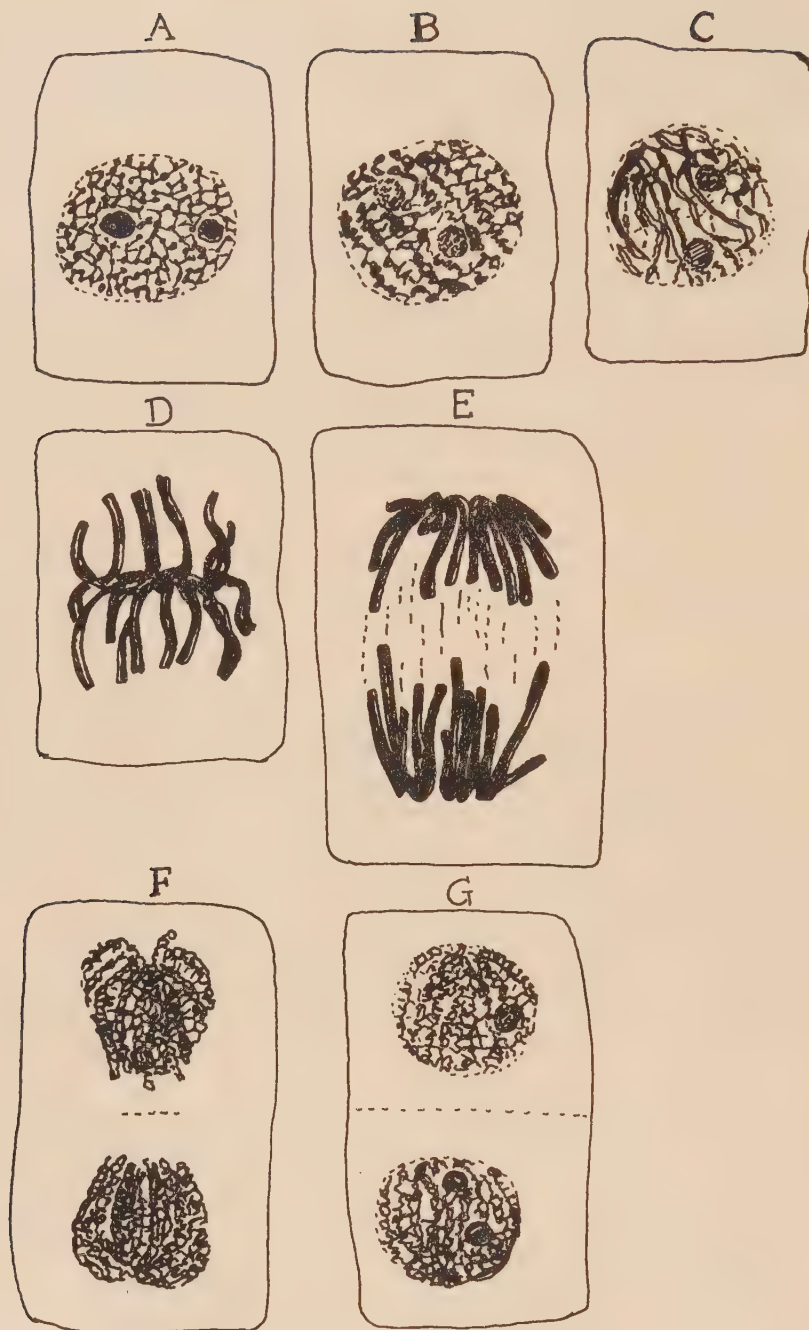


Fig. 1 - Caryocinèse normale (cellules de méristèmes radiculaires de bulbes d'*Allium sativum* L.)

A - noyau interphasique.
D - métaphase.

B - début de prophase.
E - anaphase
G - fin de télophase.

C - fin de prophase
F - début de télophase

- Tropocinèse (absence de régulation d'orientation du noyau lors de la prophase)
 - avec tropodiérèse (cloison mal orientée)
hémidiérèse
 - ou stathmodiérèse.

- Hémicinèse = Mérostatismocinèse (la translation anaphasique des chromosomes présente des anomalies)
 - avec hémidiérèse
 - ou stathmodiérèse.

- Stathmocinèse (absence de tout fonctionnement fusorial)
 - avec obligatoirement stathmodiérèse.

Dans certains cas, les stathmométaphases présentent une disposition particulière : en étoile (star métaphase).

./ ...

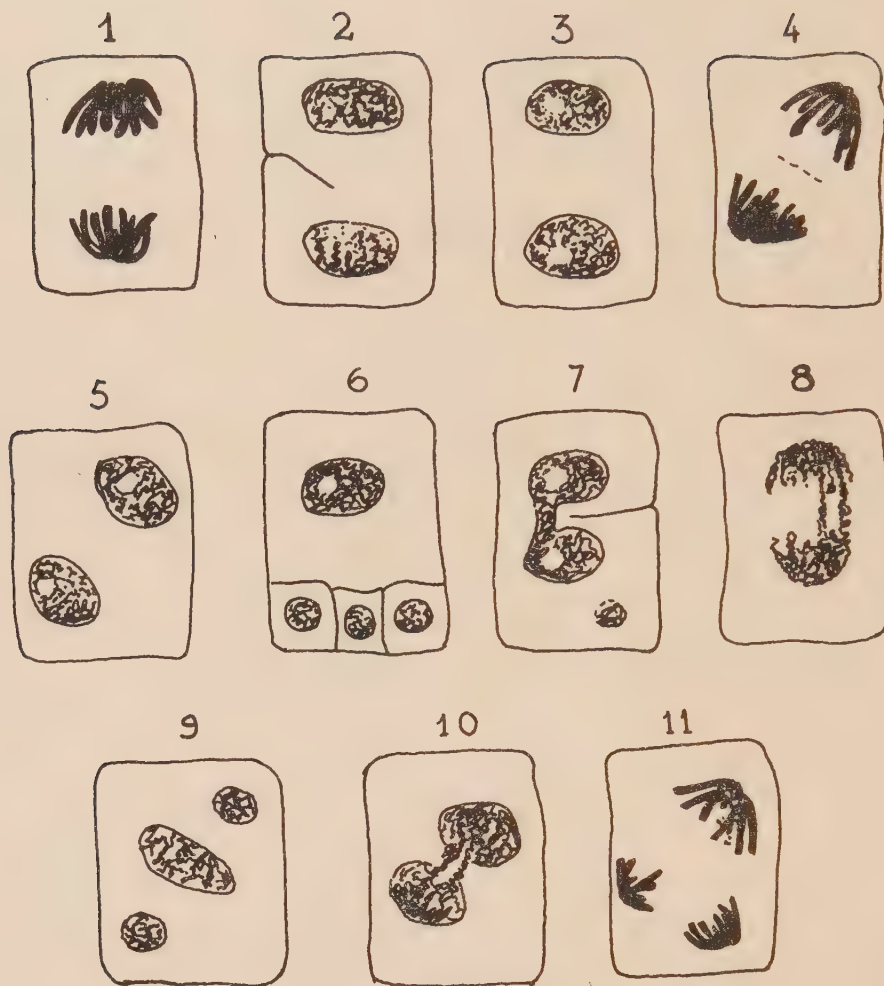


Fig. 2 -

1 : cinèse normale

3 : orthocinèse avec stathmodiérèse

5 : tropocinèse avec stathmodiérèse

2 : orthocinèse avec hémidiérèse

4 : tropocinèse

6,7,8 : hémiothocinèses

9,10, 11 : hémitropocinèses.

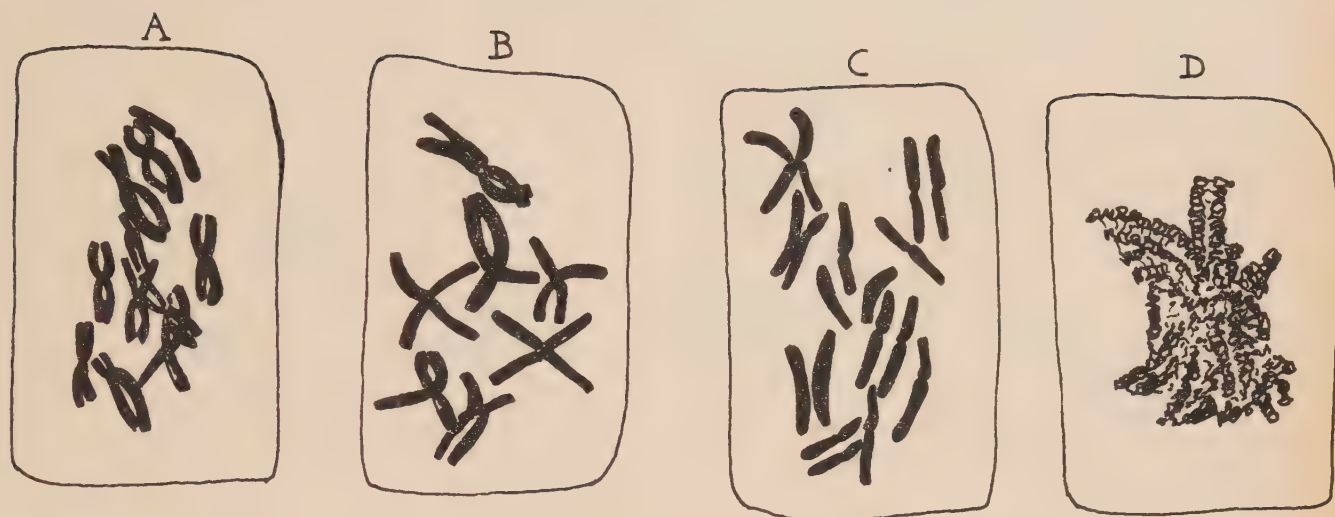


Fig. 3 - Stathmocinèse (Allium sativum L.)

A : début de stathmométaphase
C : stathmoanaphase

B : fin de stathmométaphase
D : stathmotélophase.

D'autre part, des troubles, s'exerçant sur les chromosomes eux-mêmes (action chromatoclasique), consistent principalement en un gonflement et une agglutination de chromosomes (stickiness) soit en l'apparition des fragmentations.

./...

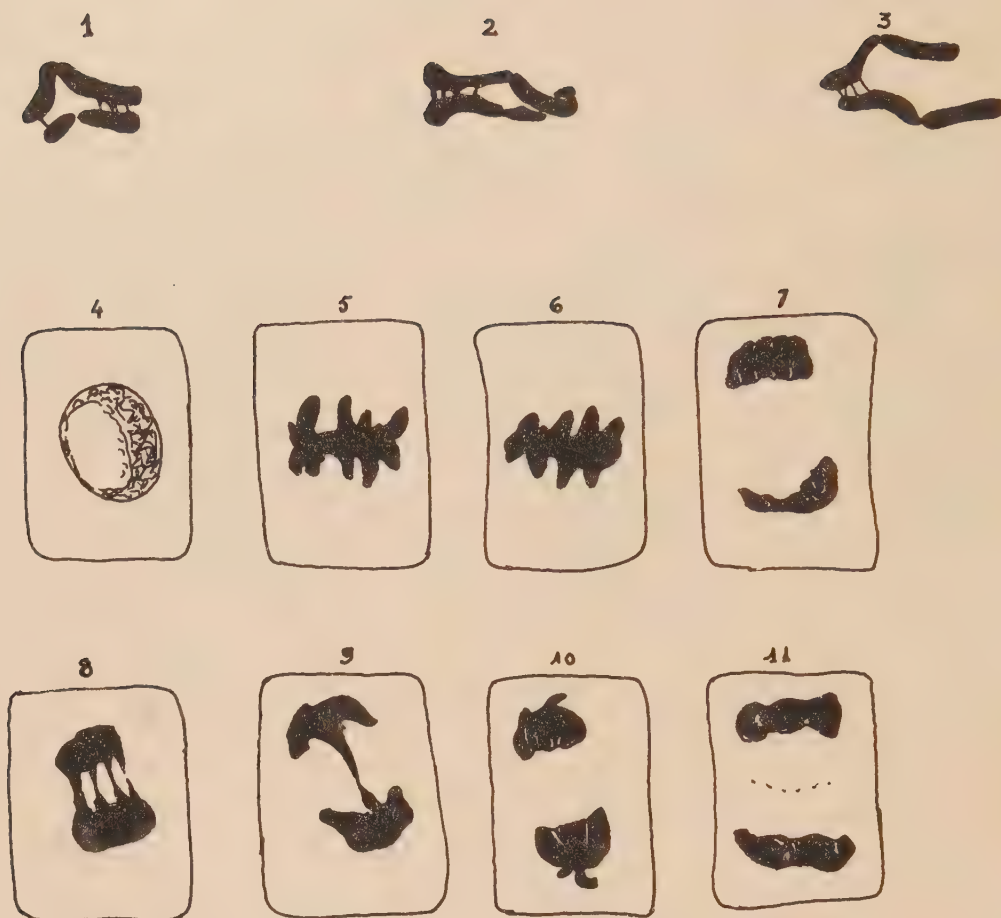


FIG. 4 - Agglutination chromosomique (stickiness)

- 1,2,3 : Détail d'une paire de chromosomes agglutinés.
 4 : Noyau interphasique.
 5,6 : Métaphase
 7 : Anaphase
 8,9 : Anaphases avec ponts chromosomiques
 10,11 : Télaphases.

b) Détermination de l'Index mitotique

On appelle index mitotique le nombre de cinèses observées dans un total de 1.000 cellules. Pratiquement le pourcentage de cellules en mitose est dénombré dans un lot de 2.000 à 3.000 cellules choisies dans différentes régions de la préparation, parmi les cellules évidemment méristématiques. Ce nombre est nécessaire pour corriger l'irrégularité de la

répartition des cinèses dans l'ensemble du méristème.

G. Deysson (21) estime, en conclusion d'une étude quantitative, que, pour qu'une détermination de l'index mitotique soit correcte, il est nécessaire que l'on rencontre en moyenne au moins une cinèse par champ microscopique, sinon le choix des champs numérisés prend une trop grande importance dans le résultat final. Le nombre de cellules par champ ne doit pas dépasser 50 pour une détermination commode. G. Deysson ne détermine donc pas des index mitotiques inférieurs à 20 ou 25 pour 1000 ; cet auteur préfère, dans ce cas, indiquer seulement le nombre total de cinèses existant dans le méristème préparé (numération totale) car il considère que les comparaisons sont plus précises sur des nombres bruts que sur des pourcentages de valeur très inégale.

c) Etablissement de la formule mitotique

Nous ne pouvons nous contenter d'établir le pourcentage des différentes phases de cinèse dans le lot utilisé pour la détermination de l'index mitotique. En effet, G. Deysson estime qu' "il est nécessaire de compter environ 400 cinèses si l'on veut connaître exactement l'importance des anomalies accessoires ou très peu fréquentes, bien que caractéristiques".

Toujours d'après cet auteur, "l'expression par rapport à 1.000 cellules nous renseigne sur le nombre absolu de chaque stade et ce n'est qu'en adoptant ce mode d'expression que nous serons en droit de conclure à une augmentation ou à une diminution de telle ou telle phase sous l'effet d'un traitement donné. L'expression par rapport à 100 cinèses nous renseigne, au contraire, sur les proportions relatives des différents stades et il est essentiel de souligner que toute variation de l'un de ceux-ci entraîne une variation des autres en sens inverse sans que l'on puisse distinguer ici quelle est la variation réelle et quelles sont les variations apparentes. Ces nombres expriment, en réalité, les différences de durée des diverses phases ... Enfin, il est bon d'utiliser simultanément les deux modes d'expression indiqués plus haut et la comparaison des résultats obtenus par ces deux méthodes est souvent instructive."

4°) Expression des résultats

Les résultats obtenus sont traduits par une représentation graphique afin d'éviter la lecture fastidieuse de nombreux tableaux numériques et de faciliter surtout la comparaison entre elles des diverses expériences.

Nous adoptons le schéma de G. Deysson (21) qui présente des avantages sur celui de Von Moellendorff (64). En effet, le schéma proposé par Von Moellendorff ne nous renseigne ni sur l'activité mitotique de la population cellulaire considérée, ni sur la présence éventuelle de figures mitotiques anormales et la fréquence de celles-ci. Le schéma proposé par G. Deysson s'appuie sur des principes suivants :

" La longueur totale du schéma, au lieu d'être fixe, sera proportionnelle à l'index mitotique (I.M.) de la population cellulaire considérée. La bande sera divisée en 4 segments représentant respectivement les prophases (P), métaphases (M), anaphases (A) et télophases (T). Son épaisseur, variable, rendra compte de l'intensité des troubles apportés

à chaque stade ; en ne considérant que des grandes catégories de troubles, pour ne pas surcharger les schémas, nous distinguerons en 5 unités d'épaisseur qui exprimeront :

- 1 = les cinèses normales,
- 2 = les tropocinèses (troubles d'orientation),
- 3 = les stathmodiérèses (inhibition du cloisonnement cellulaire),
- 4 = les hémicinèses (mérostathmocinèses : fonctionnement anormal du fuseau),
- 5 = les stathmocinèses (inhibition fusoriale complète).

Ces divers troubles apparaissant plus ou moins tôt au cours du déroulement de la cinèse, les prophases seront toujours normales (P), les métaphases seront normales (Mn), tropo- (Mt) ou stathmo- (Ms), les anaphases seront normales (An), tropo- (At), héli- (Ah) ou stathmo- (As) et les télophases normales (Tn), tropo- (Tt), sans phragmoplaste (Tsp), héli- (Th) ou stathmo- (Ts).

Si, outre les anomalies décrites, il existe des troubles dans la structure des chromosomes (fragmentations, agglutinations, etc ...) on pourra surcharger d'un pointillé les zones d'une longueur proportionnelle à la fréquence de ces troubles. Bien entendu, en regard de chaque expérience, on figurera les résultats obtenus dans l'étude du témoin correspondant, et si, faute de place, nous ne rendons parfois compte que d'une numération par expérience, on se souviendra que nous effectuons toujours au moins deux numérations dans chaque cas, afin de vérifier que nos résultats ont bien une valeur générale".

./ ...

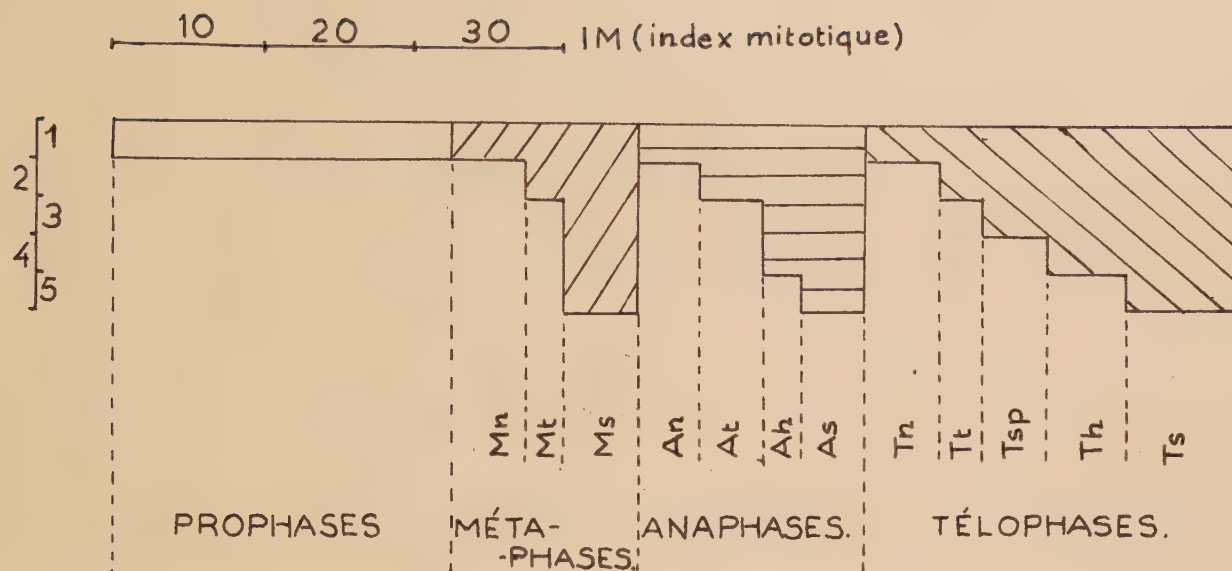


Fig. 5 - Schéma d'activité mitotique (v.texte)

Cette figure se lit de la façon suivante, par comparaison à l'échelle des index mitotiques : Index mitotique = 75 (cinèses pour 1000 cellules). Prophase = 22,5. Métaphases = 12,5 dont 5 normales, 2,5 tropo-, 5 stathmo-. Anaphases = 15 dont 5,5 normales, 3,5 tropo-, 2,5 hémi-, 3,5 stathmo-. Télaphases = 25 dont 5 normales, 2,8 tropo-, 4,7 sans phragmoplaste, 5 hémi-, 7,5 stathmo-.

Chapitre III

ETUDE de l'ACTION de DIVERS ALCOOLS :

- A - Action de l'alcool éthylique
- B - Action de l'éthylène-glycol
- C - Action du propylène-glycol
- D - Action du glycérol.

A - ACTION DE L'ALCOOL ETHYLIQUE

I - Données bibliographiques

L'action de l'alcool éthylique sur les cellules a fait l'objet de nombreuses études de différents auteurs depuis fort longtemps. Le choix du sujet expérimental est aussi varié que le but recherché. Les uns utilisent des cellules d'origine animale (cellules de l'épithélium de la peau de grenouille, cultures de fibrocystes, cultures de tissus d'embryon de poulet) ; les autres des cellules d'origine végétale (Elodea, Zea, Pisum, Vicia, Spirogyra, Allium cepa, Triticum vulgare, Trigonella foenum graecum, etc...). Les études ont porté soit sur l'influence exercée sur la perméabilité cellulaire, soit sur l'action narcotique de l'alcool éthylique sur les mitoses elles-mêmes, soit sur les variations de thermogénèse provoquées, soit l'influence exercée sur la germination et sur la croissance. Les conclusions des auteurs suivants, plus ou moins précises selon les cas, ont mis en évidence l'action de l'alcool éthylique sur la cinèse tant animale que végétale : Ziegler (94) et Polowzov (73) sur l'oeuf de l'oursin, Aisenberg (2) sur l'épithélium de la peau de grenouille; Krantz (46) sur les cultures de fibrocystes, R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton (71) sur les cultures de tissus d'embryon de poulet, Yamaha (93) sur Vicia Faba, Grace Medes et J.F. Mac Clendon (58) sur Elodea, Mainx (56) sur Zea, Pisum et Vicia, Lepeschkin (50) sur Spirogyra, G. Ostergren (68) sur Allium Cepa, Hélène Poussel (74) sur Triticum vulgare et sur Allium Cepa, A. Vaarama (90) sur Allium et sur Trigonella foenum graecum, Miroshnichenko -(63) sur le Haricot, sur le Saule et sur le Géranium, A. Ber et Z. Moskwa (6) sur l'Avoine, A. Barthelmess (5) sur Allium.

Aisenberg (2), en 1936, a constaté que l'alcool éthylique provoque, selon les concentrations des troubles plus ou moins graves de la division cellulaire, et aux fortes concentrations de 0,4 à 0,8 Molécule par litre (correspondant à 2,5 et 5 % en volume environ) une action stimulante sur les mitoses. Krantz (46), en 1938, a remarqué un ralentissement de la formation du fuseau et de tous les phénomènes de la télophase. Selon

ce dernier, l'alcool éthylique n'a aucune action favorable ou défavorable sur l'apparition de nouvelles mitoses. R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton (71), en 1950, ont utilisé l'alcool éthylique à des concentrations variant de 0,1 à 20 % en volume et ont signalé une action léthale de ce corps aux doses de 5 à 20 %, une action inhibitrice à 2 % ; l'alcool est inactif à 1 % et, aux concentrations de 0,1 à 0,5 %, il exerce une action stimulante, maintenant les cultures de tissus de poulet en survie prolongée et plus intensément actives.

Sur le matériel végétal, F. Mainx (56), en 1923, sans donner de précisions sur la durée de l'action ni sur les doses utilisées, a conclu à l'inactivité de l'alcool éthylique sur les processus cinétiques. Yamaha (93), en 1927, a signalé que les alcools méthyle, éthylique et butylique provoquent des anomalies telles que des ponts chromosomiques, des mitoses tripolaires, formation de caryomères. G. Ostergren (68), en 1944, a noté qu'à partir de 0,5 à 1 molécule par litre, l'alcool éthylique provoque la mitoclasie et de 0,25 à 0,5 molécule par litre la tuméfaction chez l'*Allium*. Hélène Pousset (74), dans un travail plus détaillé en 1945, a signalé qu'aux concentrations de 0,5 à 0,8 molécule par litre (correspondant à 3 et 5 % en volume) il apparaît des tropométaphases, des hémicinèses, des contractions chromosomiques et qu'à 0,67 molécule par litre (4 % en volume) on note l'altération du fuseau, la présence des noyaux jumelés avec un ou plusieurs ponts chromosomiques, de cloisonnements désorientés ou multiples dans une même cellule. A. Vaarama (90) en 1947, a confirmé la concentration-seuil trouvée par G. Ostergren : 0,5 à 1 molécule par litre. Miroshnichenko (63), en 1948, serait le seul auteur avec A. Ber et Z. Moskwa (6), parmi ceux qui ont travaillé sur du matériel d'origine végétale, à avoir trouvé une action stimulante pour les faibles concentrations. Miroshnichenko a signalé également une action inhibitrice à partir de 2,5 % alors que pour A. Ber et Z. Moskwa, cette action est de 0,5 %. A. Barthelmess (5), en 1957, a trouvé une action antimitotique et mitoclasique de l'alcool éthylique aux concentrations mises en oeuvre : de 2,3 à 6,9 % en volume.

En conclusion, des expériences ont été faites sur une gamme de concentrations assez vaste avec l'alcool éthylique : de 0,001 à 20 % en volume. La plupart des résultats font ressortir une action léthale à partir de 5 % (R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton ; G. Ostergren), une action mito-dépressive et des troubles mitotiques aux doses de 2 à 5 % (2 % pour R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton, 3 à 5 % pour Hélène Pousset, 2,5 % pour Miroshnichenko, 2,3 à 6,9 % pour A. Barthelmess) ; la zone inactive de l'alcool éthylique se situe à 1 % (R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton, Grace Medes et Mac Clendon). Seuls, Aisenberg, R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton, Miroshnichenko, A. Ber et Z. Moskwa, ont fait état de l'action stimulante de l'alcool éthylique : si pour Aisenberg, les concentrations signalées sont de 0,4 à 0,8 molécule par litre (2,5 à 5 % en volume environ), pour R. Parker, J.F. Morgan et H.J. Morton, Miroshnichenko, les concentrations sont inférieures à 1 % en volume et pour A. Ber et Z. Moskwa les concentrations inférieures à 0,5 % en volume.

A la lumière de ces données, nous avons entrepris nos expériences sur le *Triticum vulgare* L., sur le *Pisum sativum* L. et sur l'*Allium sativum* L. à des concentrations variant de 0,001 à 2 % en volume (8.10^{-7} à $3.4.10^{-4}$ molécule environ) pour étudier l'action stimulante éventuelle, l'inhibition des cinèses et l'apparition d'anomalies cytologiques.

II - Expériences personnelles

12) Expériences sur le Triticum vulgare L.

Elles ont pour but de préciser l'influence de l'alcool éthylique sur la germination et sur la croissance des plantules.

Nous avons utilisé des concentrations d'alcool éthylique allant de 0,001 à 2 % en volume ($1,7.10^{-7}$ à $3,4.10^{-4}$ molécule).

a) Germination

La détermination du pourcentage de grains germés nous montre une inhibition marquée de l'alcool éthylique à la dose de 2 % en volume et à aucun moment nous n'avons pu noter d'action stimulante nette de ce corps pour les concentrations inférieures de 0,5 % en volume.

Les résultats quantitatifs des expériences sur 100 grains de Blé sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Après 48 heures de traitement :

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	grains commençant à germer	grains non germés
Témoins	89	7	4
2 % en volume	17	76	7
1 % "	78	18	4
0,5 % "	83	13	4
0,1 % "	85	11	4
0,01 % "	92	5	3
Témoins	85	8	7
0,05 % en volume	94	5	1
0,001 % "	88	11.	1

b) Croissance

Nous avons mesuré les longueurs des radicelles et des tigelles des grains de Blé germés de l'expérience précédente, ce qui nous fournit les résultats suivants :

Après 48 heures de traitement :

Moyenne en $\frac{m}{m}$ des	Tigelles	Radicelles
Témoins	7,47	16,74
2 % en volume	0,94	1,17
1 % "	1,73	3,60
0,5 % "	2,40	6,70
0,1 % "	5	15,84
0,01 % "	5	17,30
Témoins	4,56	16,41
0,05 % en volume	4,87	16,78
0,001 % "	5,12	17,27

D'après ces expériences, nous constatons que l'alcool éthylique est nettement inhibiteur de la germination des grains de Blé à la concentration de 2 % en volume (0,34 molécule par litre) ; à 1 % en volume (0,17 molécule par litre) l'action est moins marquée quoique notable. Quant à la croissance des tigelles et des radicelles des grains de Blé germés l'action inhibitrice est plus prononcée et s'observe jusqu'à la concentration de 0,1 % en volume. L'alcool éthylique se montre inactif aux concentrations inférieures (de 0,05 à 0,001 % en volume) et nous n'avons jamais observé d'action stimulante nette.

22) Expériences sur le Pisum sativum L.

Les concentrations mises en oeuvre varient de 2 % à 0,01 % en volume. Nous ne notons que la moyenne des allongements des racines des graines de Pois.

Moyenne des allongements en m/m en	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours
Témoins	11,5	11,7	11,9	10,8	9		
2 % en volume	3,2	3,9	2,5	1,5	0,6		
Témoins	16,8	17,1	12,3	14		19,5	
1 % en volume	12,3	7,9	3,7	2,4		2,7	
0,5 % "	14,5	9,7	6	4,4		5,9	
0,1 % "	15,9	11,6	8,7	7,3		8,1	
0,01 % "	15,6	14	11,8	10,4		15	
Témoins	10,7		17,1	12,7	12,9		
0,1 % en volume	10,2		12,1	4,5	6		
0,01 % "	10,9		15,6	11,7	12,1		

Nous retrouvons ici la même action inhibitrice sur la croissance des plantules de Pois aux concentrations de 0,1 à 2 % en volume. Ces résultats sont parallèles à ceux obtenus par l'étude sur le Blé.

Conclusions :

Les concentrations de 0,1 à 2 % en volume de l'alcool éthylique exercent une inhibition de la croissance tant sur le Blé que sur le Pois. La concentration de 2 % en volume est nettement dépressive au bout de 24 heures tandis que celle de 1 % se manifeste à un degré moindre, cependant la différence de longueur entre les sujets traités et les témoins est assez importante (45 % de la longueur des témoins en 48 heures). Les concentrations de 0,1 à 0,5 % sont également inhibitrices de la croissance mais l'action est plus progressive et moins brutale.

32) Expériences sur l'*Allium sativum* L.

Après les recherches préliminaires sur le Blé et sur le Pois, nous avons effectué une étude cytologique détaillée en utilisant cette fois l'*Allium sativum* L. Les concentrations mises en oeuvre furent de 2 %, 1 % et 0,5 % en volume. En effet, nous n'a-

vions trouvé aucune action stimulante de la croissance aux concentrations inférieures et à la concentration de 2 % en volume l'alcool exerce rapidement une action mitostatique.

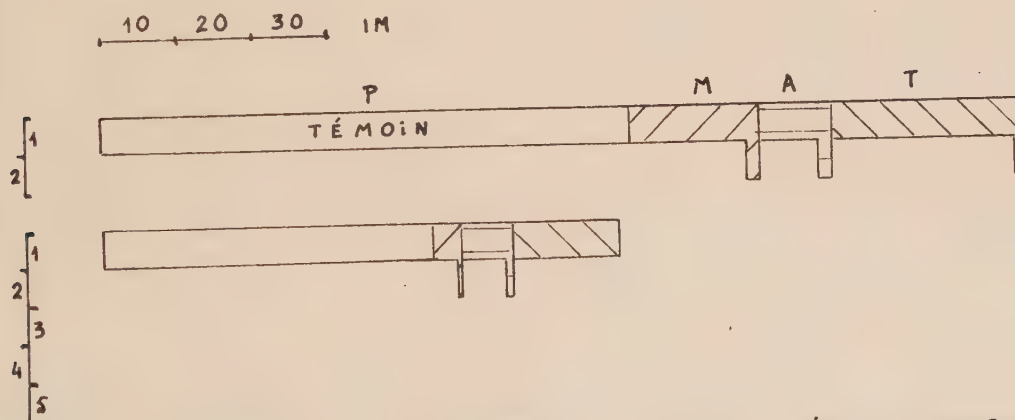
a) Concentration de 2 % en volume (0,34 molécule par litre)

Cette concentration est très active et les effets de l'alcool éthylique se manifestent très tôt (après 3 heures de traitement).

L'alcool éthylique exerce une action dépressive tant sur l'allongement des racines que sur l'activité mitotique des méristèmes. Nous avons pu observer certaines anomalies, signalées par d'autres auteurs (Aisenberg, Yamaha, H. Poussel), mais à des concentrations variant de 3 à 5 % en volume, telles que de rares hémicinèses et, plus rarement encore, des stathmocinèses et des mitoses à chromosomes aberrants.

Examinons plus en détail les différents stades des expériences.

Après 3 heures de traitement, tandis que les mitoses des sujets traités restent encore nombreuses et normales dans la majorité nous observons une légère accumulation prophasique ainsi que l'apparition de rares hémicinèses, de très rares stathmocinèses (1 à 2 par méristème) et de mitoses à chromosomes aberrants (1 à 2 par méristème), premiers indices de l'activité mitoclasique. La numération nous révèle une mito-dépression nette (index mitotiques 75,1 et 67,8 au lieu de 125,3 et 121,9 chez les témoins correspondants) et une légère prédominance du stade prophasique (64 % et 61,3 % des mitoses au lieu de 57 % et 53,7 % chez les témoins).



GRAPHIQUE 1 : ÉTHANOL 2% . TROIS HEURES . AU-DESSUS : TÉMOIN CORRESPONDANT .

A partir de 6 heures de traitement, la mito-dépression s'accroît ainsi que l'accumulation prophasique. Les quelques rares anomalies signalées précédemment se retrouvent ici mais leur nombre ne semble pas en progression. L'aspect général des cellules reste normal, tandis que les racines des sujets deviennent légèrement plus turgescentes que celles des témoins.

Après 8 heures, l'action mito-dépressive de l'alcool éthylique est plus prononcée et nous pouvons observer déjà quelques rares cellules polynucléées résultant de l'action mitoclasique. Les mitoses sont, en majorité, bloquées au stade prophasique et la faible quantité de cinèses ne permet plus une détermination suffisamment précise de l'index mitotique.

	Méristème I	Méristème II
Nombre total de mitoses	266	356
Prophases	80,45 %	78,09 %
Métaphases	2,65 %	4,21 %
Anaphases	4,13 %	4,49 %
Télophases	10,90 %	12,31 %
Hémianaphases	1,13 %	-
Hémitélophases	0,74 %	0,85 %
Nombre de cellules binucléées	4	1
Nombre de cellules trinucléées	2	7

L'arrêt de l'activité mitotique est total après 24 heures de traitement. La structure de la majorité des cellules reste normale, nous retrouvons encore quelques rares cellules polynucléées. Cependant l'allongement des racines se poursuit faiblement (moyenne de 1,2 mm contre 6,1 mm chez les témoins).

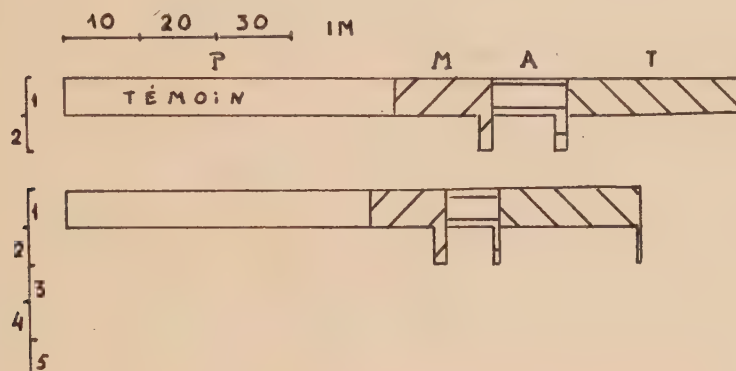
Après 48 heures d'expérience, nous rencontrons le même aspect cytologique que précédemment c'est-à-dire : mito-dépression totale, une structure cellulaire normale cependant. L'allongement des racines ne représente plus que le 1/7 de celui des témoins environ (moyenne de 0,9 mm contre 6,5 mm). La mise en retour des sujets traités dans du liquide de Knop dilué au demi leur permet de reprendre, en 48 heures environ, et leur activité mitotique et leur allongement.

L'examen des méristèmes prélevés après 3 et 4 jours de traitement conduit à des résultats analogues, mais un léger début de pycnose est observé.

b) Concentration de 1 % en volume (0,17 molécule par litre)

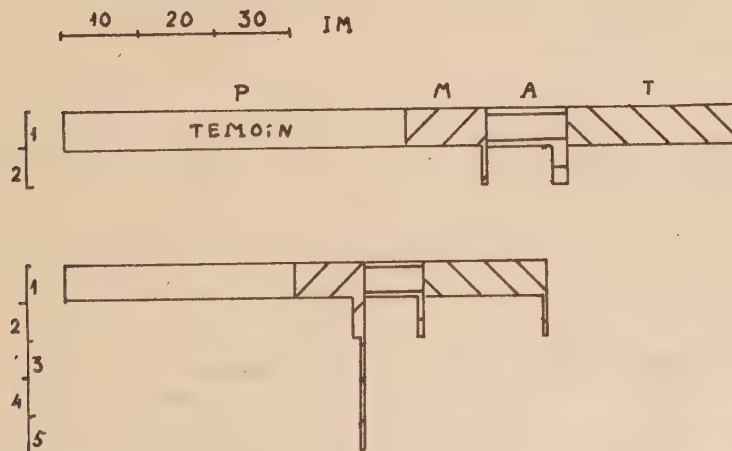
L'alcool éthylique, à cette concentration, reste encore actif mais il exerce une action uniquement mito-dépressive sans provoquer l'apparition de mitoses anormales.

Après 3 heures de traitement, l'index mitotique des sujets traités est déjà abaissé par rapport à celui des témoins (82,9 et 76 contre 96,70 et 90,40 chez les lots témoins), tandis que l'aspect cytologique est normal.



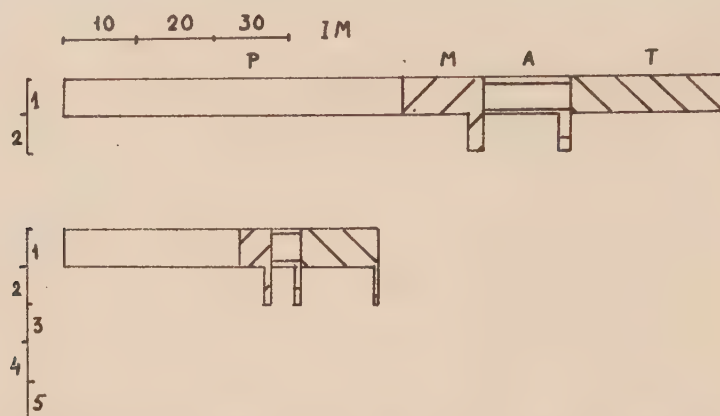
GRAPHIQUE 2 : - ÉTHANOL 1% - TROIS HEURES
AU-DESSUS : TÉMOIN CORRESPONDANT.

A partir de 6 heures, l'index mitotique ne représente plus que les 2/3 environ de celui des témoins : 65,8 et 63,4 contre 91,20 et 89,20 et nous n'avons à signaler aucune anomalie cellulaire.



GRAPHIQUE 3 : ÉTHANOL 1% 6 HEURES. AU-DESSUS : TÉMOIN CORRESPONDANT.

Après 24 heures de traitement, la mito-dépression s'accroît et nous trouvons que l'index mitotique des sujets s'abaisse au-dessous de la moitié de la valeur trouvée chez les témoins : 41,4 et 38,7 contre 88,9 et 87,80. L'allongement des racines reste sensiblement égal à celui du lot témoin.



GRAPHIQUE 4 : ÉTHANOL 1% 24 HEURES. AU-DESSUS : TÉMOIN CORRESPONDANT.

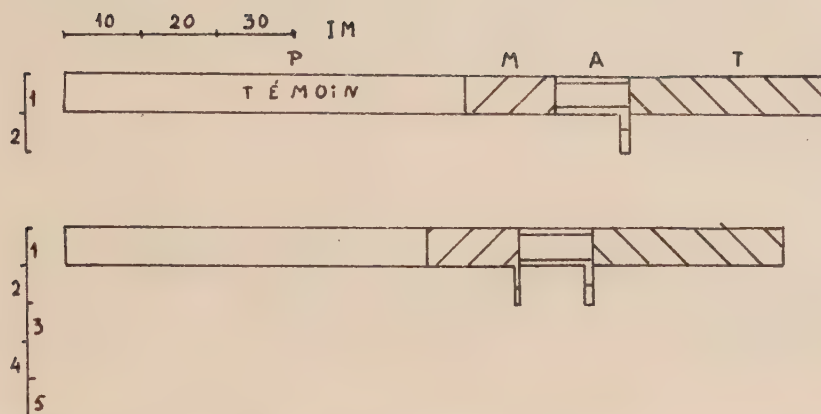
L'action mito-dépressive de l'alcool se poursuit progressivement en 48 heures ; et au bout de 3 jours de traitement nous notons une disparition totale des cinèses ainsi que, par places, un début de lyse de la chromatine tandis que la structure de la majorité des cellules reste encore normale. L'allongement des racines traitées diminue peu à peu et ne représente que la moitié de celui du témoin au bout de 3 jours et le tiers au 4ème jour.

c) Concentration de 0,5 % en volume (0,08 molécule par litre)

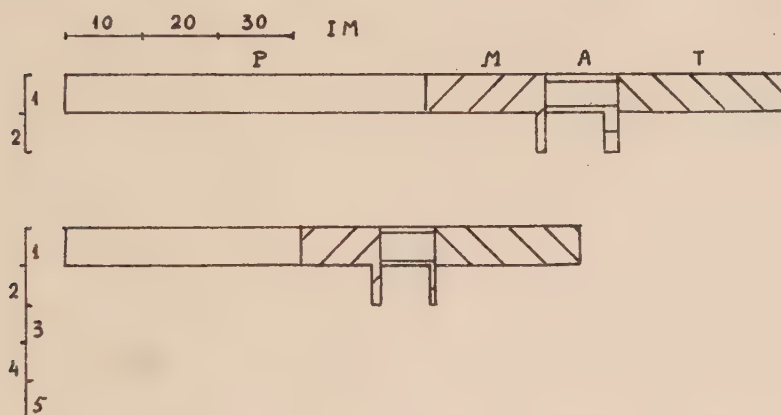
A cette concentration, l'alcool éthylique n'agit que tardivement. Son action mitodépressive légère ne se manifeste qu'à partir de 3 jours de traitement et nous n'avons observé aucune anomalie cytologique.

Après 48 heures de traitement, l'index mitotique des sujets reste sensiblement égal à celui des témoins et les divers stades de la cinèse sont normaux : index mitotiques de 95,40 et 94,70 contre 101 et 93,70 chez les témoins.

L'activité mitotique des méristèmes prélevés après 3, 4, 5, 7 jours de traitement est encore normale. Cependant, nous trouvons un index mitotique de 72,8 et 68,1 contre 102,4 et 95,8 chez les témoins, au 7ème jour.



GRAPHIQUE 5 : ÉTHANOL 0,5% 48 HEURES . AU-DESSUS : TÉMOIN CORRESPONDANT .



GRAPHIQUE 6 : ÉTHANOL 0,5% 7 JOURS . AU-DESSUS : TÉMOIN CORRESPONDANT .

L'allongement des racines reste sensiblement égal à celui des témoins pendant les 3 premiers jours d'expérience, puis légèrement inférieur à partir du 4ème jour (moyenne de 6,2 mm contre 7,9 mm le 4ème jour, 5,7 mm contre 7,5 mm le 5ème jour, 5,1 mm contre 7,3 mm le 7ème jour).

Conclusions :

Il résulte de notre étude que l'alcool éthylique exerce une action mito- dépressive marquée et que dans certaines conditions (concentration de 2 % en volume à partir de 3 heures de traitement) on observe en outre une légère altération du fuseau de caryocinèse aboutissant à de très rares hémicinèses et stathmocinèses (3 à 4 par méristème au maximum) donnant par la suite des cellules bi ou trinuéclées.

Nous n'avons pas observé aux concentrations mises en oeuvre de ponts, ni de cloisonnements désorientés ou multiples dans une même cellule, ni de contractions chromosomiques comme l'ont signalé H. Poussel et Aisenberg.

III - Conclusions générales

A la suite de l'étude détaillée dont nous venons de rapporter les résultats, nous concluons qu'il est possible d'utiliser l'alcool éthylique comme adjuvant à la concentration de 0,5 % en volume (soit 0,08 molécule par litre environ) durant une période de 48 heures, et à la concentration de 1 % en volume (soit 0,17 molécule par litre environ) pendant une durée inférieure à 24 heures en tenant compte de l'action mito-dépressive propre de ce corps.

2

2 2

B - ACTION de l'ETHYLENE-GLYCOL

I - Données bibliographiques

Si l'alcool éthylique a fait l'objet de nombreuses études, les recherches concernant l'éthylène-glycol sont beaucoup plus rares. Cependant son activité mitoclasique et sa grande toxicité vis à vis des cellules végétales ont été mises en évidence par G. Ostergren (68-69) qui en a fait une étude détaillée en 1944 ; ultérieurement ses résultats ont été confirmés par F. d'Amato (4) en 1948.

Ostergren a expérimenté l'éthylène-glycol sur l'*Allium Cepa* à des concentrations variant de 0,25 molécule par litre à 4 molécules par litre. Selon cet auteur, la concentration de 0,25 molécule par litre et les concentrations inférieures sont inactives vis à vis de la cellule, tandis qu'à 0,5 molécule par litre, on observe, après 3 jours, alors que l'action mito-dépressive est seulement légère, une liquéfaction nette du noyau au repos et la formation de ponts anaphasiques ; à 1 molécule par litre les ponts anaphasiques apparaissent après 12 heures de traitement, après 3 jours on observe une liquéfaction des chromosomes, une mito-dépression considérable et une inhibition de la croissance des racines. A 2 molécules par litre, la toxicité apparaît très tôt, les racines sont légèrement flaccides et on note une action mitoclasique partielle, quelques ponts anaphasiques ; les mêmes phénomènes s'accroissent après 12 heures de contact. La mort du sujet en expérience survient au bout de 3 jours. La concentration de 4 molécules par litre est hautement toxique et elle provoque la mort du sujet traité à partir de 4 heures avec les phénomènes de liquéfaction forte des chromosomes et leur fusion en masses irrégulières.

F. d'Amato a repris l'étude de l'action de l'éthylène-glycol en comparant ses résultats à ceux obtenus par G. Ostergren ; mais ses expériences ont été effectuées sur des bulbes qui avaient été conservés à une température de 0 à -4°C et, de ce fait, les images mitotiques montraient des chromosomes déjà collants. F. d'Amato a noté une contraction des chromosomes plus grande que normalement à la concentration de 0,5 molécule par litre, un allongement de la durée de métaphase et une action stathmocinétisante partielle au bout de 12 heures à la concentration de 1 molécule par litre, des "ball-métaphases" (métaphases où les chromosomes plus ou moins contractés, souvent appariés, gardent leur orientation prophasique et forment une sorte de pelote serrée au milieu de la cellule) à la concentration de 2 molécules par litre ; dans ces conditions, on observe la mort du sujet au bout de 3 jours de traitement. La concentration de 4 molécules par litre provoque une liquéfaction des chromosomes après 4 heures d'expérience et rend les racines flaccides à partir de 12 heures.

Il ressort de ces résultats que l'éthylène-glycol possède une activité mitoclasique et la propriété de provoquer une forte liquéfaction des chromosomes dans des conditions extrêmement peu toxiques.

II - Expériences personnelles

Nos expériences ont été faites avec des concentrations variées d'éthylène-glycol afin de déterminer l'action de ce corps sur la germination et sur la croissance du *Triticum vulgare* L. (concentrations allant de 0,0001 molécule par litre à 0,1 molécule par litre), sur la croissance des plantules de *Pisum sativum* L. (concentrations variant de 0,005 molécule par litre à 0,7 molécule par litre), enfin sur la croissance des racines et sur l'activité mitotique des méristèmes de *Allium sativum* L. (concentrations de 0,2 molécule par litre à 2 molécules par litre).

1°) Expériences sur le *Triticum vulgare* L.

L'étude de l'action de l'éthylène-glycol sur la germination et sur la croissance du blé est pratiquée sur le même lot de grains. Notre but ici est de rechercher une action stimulante éventuelle de faibles concentrations de ce corps.

a) Germination

Les travaux effectués aux concentrations allant de 0,0001 à 0,1 molécule par litre nous fournissent des résultats qui sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Après 48 heures de traitement :

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	Grains commençant à germer	Grains non germés
Témoins	95	2	3
0,1 molécule/litre	88	11	1
0,05 "	94	5	1
Témoins	93	7	0
0,01 molécule/litre	81	17	2
Témoins	99	0	1
0,001 molécule/litre	95	2	3
0,0001 "	91	8	1

Nous constatons donc qu'aux concentrations employées aucune action stimulante n'est observée et les mesures de la croissance des tigelles et des radicules des grains de Blé conduisent aux mêmes résultats.

b) Croissance

Moyenne en m/m des	Tigelles	Radicelles
Témoins	3,16	7,44
0,1 molécule/litre	3,12	6,84
0,05 "	3,05	6,94
Témoins	3,95	11
0,01 molécule/litre	3,64	10,52
Témoins	5,10	17,60
0,001 molécule/litre	5,30	17,30
0,0001 "	4,90	17,80

Ainsi aux concentrations allant de 0,0001 à 0,1 molécule par litre, nous n'observons ni action stimulante ni action dépressive nette. Nous poursuivons donc notre étude sur le Pois avec des concentrations supérieures en vue de déterminer la zone d'activité dépressive de l'éthylène-glycol.

2°) Expériences sur le Pisum sativum L.

Nous utilisons ici des concentrations allant de 0,005 à 0,7 molécule par litre et nous obtenons les nombres suivants :

./...

Moyenne des allongements en m/m en	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours
Témoins	9,5	13,1	12,2	10,2	11		20,5
0,7 mol./litre	7,5	7,7	6,4	4,1	5		6,3
0,5 "	8,6	9	7,2	4,2	5,2		6,6
0,2 "	9,3	11,6	10,3	7,6	9,8		14,4
0,1 "	10	11,7	10,4	9,8	10,6		16,3
Témoins	11,5	11,7	12,6	10,8	10,5		
0,15 mol./litre	11,1	11,1	10,9	8,7	8,2		
0,01 "	11,7	11,1	12,7	9,3	9,6		
0,005 "	11,4	11,2	12,7	10,7	10,6		

Les résultats nous montrent que l'éthylène-glycol exerce une action dépressive sur la croissance des plantules de Pois à des concentrations très faibles. Ainsi la concentration de 0,15 molécule par litre innibe l'allongement des plantules à partir du 3ème jour.

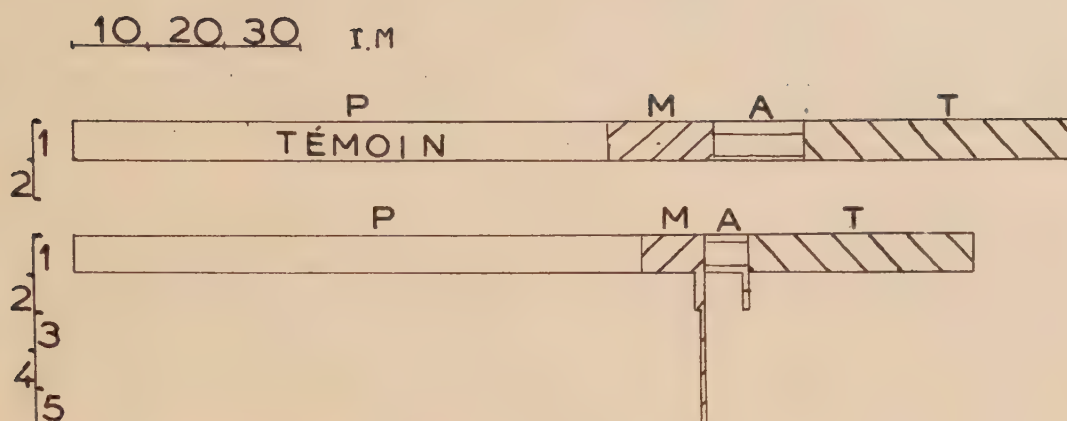
39) Expériences sur l'*Allium sativum* L.

Nous poursuivons nos expériences sur l'Ail en vue d'une étude cytologique détaillée avec des concentrations d'éthylène-glycol variant de 0,2 à 2 molécules par litre.

a) Concentration de 2 molécules par litre

A cette concentration, l'éthylène-glycol exerce rapidement une action inhibitrice sur l'activité mitotique des méristèmes et sur la croissance des racines.

En effet, à partir d'une heure de traitement, si les index mitotiques restent encore élevés (118,9 et 106 contre 136,1 et 132,3 chez les lots témoins) nous notons déjà un léger début d'action mitoclasique. L'évolution des cinèses est perturbée, ce qui se traduit par une légère accumulation prophasique (les prophases représentant 62,9 et 57,4 % des mitoses contre 55,3 et 53 % chez les témoins), par la présence des ponts anaphasiques et télophasiques (photo 1) enfin des stathmocinèses assez rares par ailleurs.



GRAPHIQUE 7 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL $2.10^{-3}M$ UNE HEURE.

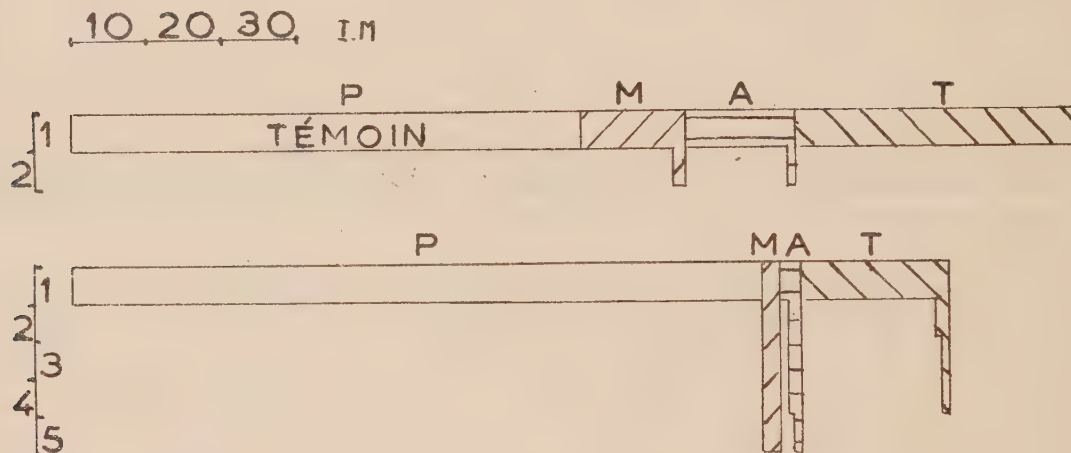
Une numération totale d'anaphases, de télophases normales et anormales ainsi que des stathmocinèses nous fournit ces résultats :

Nombre total des cinèses comptées	480	%
Anaphases normales	47	9,80
Tropo-anaphases	14	2,91
Ponts anaphasiques	18	3,75
Télophases normales	341	71,05
Tropo-télophases	1	0,20
Ponts télophasiques	48	10
Stathmocinèses	11	2,29

Le report dans le liquide de Knop dilué au demi des sujets traités nous révèle , après 24 heures, une diminution sensible des mitoses, la persistance de rares stathmocinèses et de rares ponts, une altération d'un certain nombre de noyaux quiescents avec chromatolyse ou pycnose ; 48 heures plus tard, la pycnose est presque totale. Par ailleurs, l'allongement des racines est très faible le premier jour (moyenne de 0,5mm contre 6,4 mm chez les témoins) puis cesse. Les racines deviennent translucides, d'abord turgescentes puis flaccides.

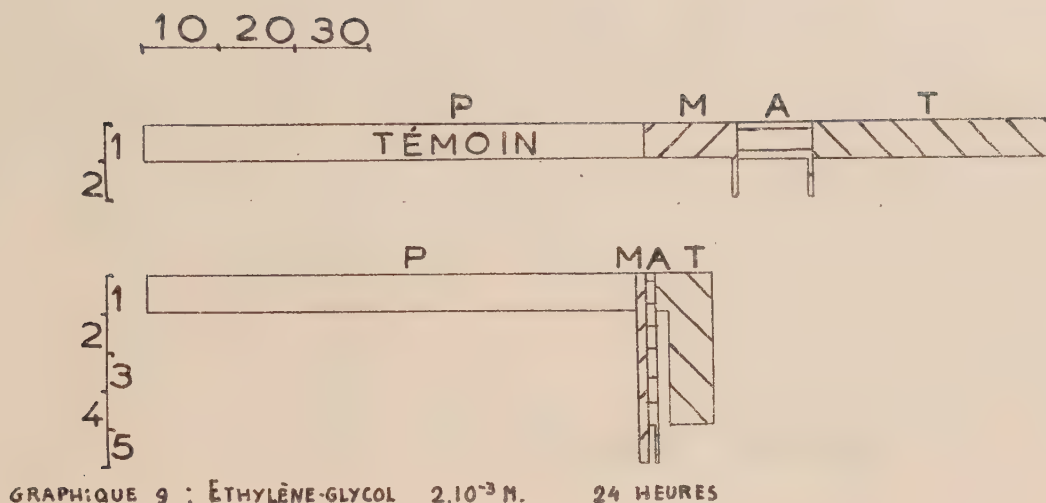
Un traitement de 4 heures laisse une activité mitotique intense. Cependant nous observons une augmentation d'anomalies cytologiques : de nombreux ponts et stathmocinèses, de rares chromosomes aberrants. Les sujets traités, mis en retour dans le liquide de Knop dilué au demi, présentent une diminution de cinèses avec une accumulation prophasique, de rares stathmocinèses, de rares ponts chromosomiques, des cellules polynucléées, enfin des zones pycnotiques importantes et un léger début de lyse de la chromatine 24 heures après; l'altération des noyaux s'accroît 48 heures plus tard.

A partir de 8 heures de traitement, les cinèses sont toujours nombreuses. Nous notons un important blocage de mitoses au stade prophasique et - en plus des anomalies signalées précédemment - des hémicinèses pluripolaires (photos 2,3,4), assez rares cependant (10 % environ de l'ensemble des ana et télophases), et quelques cellules polynucléées. Les index mitotiques restent sensiblement égaux à ceux du lot témoin (126 et 115,9 contre 133 et 129,6). Les divers stades ne sont plus en proportion normale comme le montre le graphique ci-dessous :



GRAPHIQUE B : ÉTHYLÈNE-GLYCOL 2.10^{-3} M 8 HEURES.

Après 24 heures de traitement, une mito-dépression sensible est observée. En effet, les index mitotiques sont de 79,8 et 74,2 contre 131 et 120 chez les témoins. Les pro-phases représentent 87,7 % des cinèses dans un méristème, 86,4 % dans un autre (contre 56,7 et 54,7 % chez les témoins), les métaphases et les anaphases sont quasi- inexistantes enfin le nombre de télophases fortement diminué. Ceci montre une accentuation nette de l'action inhibitrice de l'éthylène-glycol ainsi que de son action mitoclasique : les stathmocinèses et les hémicinèses sont en nombre croissant (50 % des mitoses environ), (photos 5, 6), et nous notons la présence des cellules bi, tri et même tétranucléées dans les méristèmes traités.

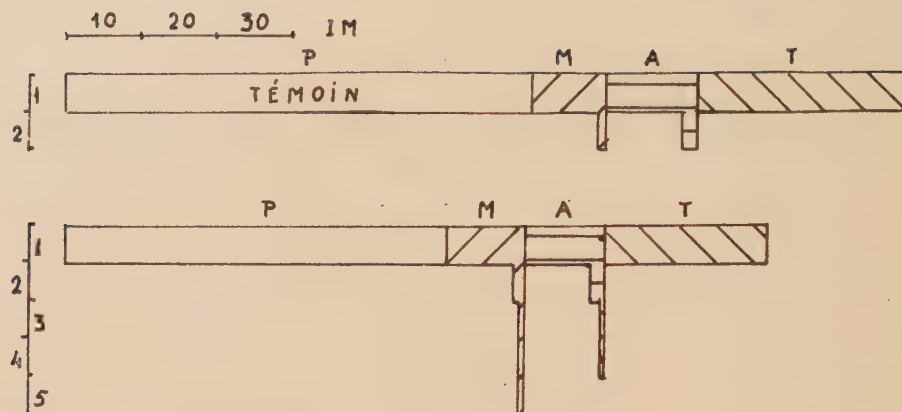


La croissance des racines soumises au traitement est faible (moyenne de 0,6 mm contre 3 mm chez les témoins). Le report dans le liquide de Knop dilué au demi de ces sujets nous permet d'observer 24 heures plus tard un aspect léthal des méristèmes, ce qui est confirmé par un allongement nul et un aspect flaccide des racines.

Après 48 heures de traitement, l'accumulation prophasique est très importante. Certaines des prophases sont en voie de régression vers l'état interphasique, quelques cellules polynucléées persistent encore et une lyse de la chromatine apparaît par places dans les noyaux au repos. Les racines traitées se sont très faiblement allongées (moyenne de 1,3 mm contre 6,5 mm chez les témoins le 1er jour, 0,6 mm contre 6,7 mm le 2ème jour) et quelques unes d'entr'elles prennent un aspect translucide. 24 heures après leur report dans le liquide de Knop dilué au demi nous notons un allongement nul et un aspect léthal des méristèmes.

b) Concentration de 1 molécule par litre

Après 4 heures de traitement, les mitoses sont nombreuses et normales. Les index mitotiques sont de 92,3 et 90,2 contre 114,5 et 110,5 chez les témoins. Cependant quelques troubles cytologiques, rares il est vrai, se manifestent déjà tels que des prophases en régression, des "star-métaphases", des ponts anaphasiques et télophasiques, des chromosomes aberrants enfin des stathmocinèses et des hémicinèses pluripolaires, plus rares encore (photo 7). Les proportions des divers stades mitotiques ne sont pas sensiblement modifiées.



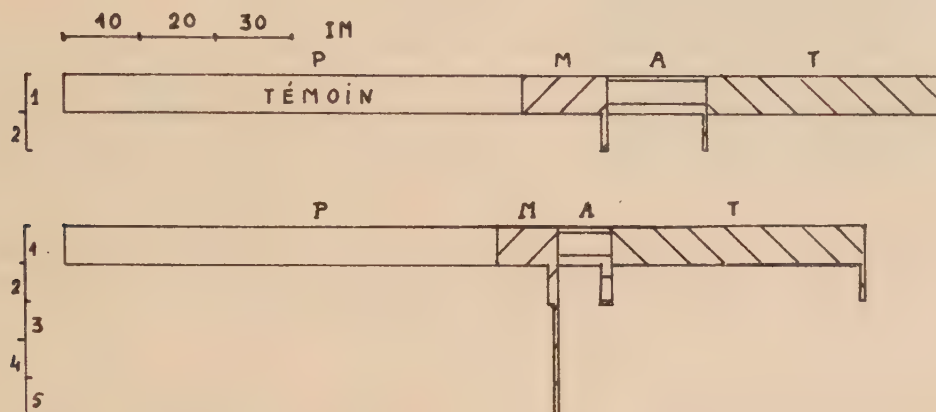
GRAPHIQUE 10 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL 10^{-3} M. 4 HEURES.

Une numération totale des mitoses anormales nous donne des résultats suivants :

Nombre total de cinèses anormales	33
Prophases en régression	6
Chromosomes aberrants métaphasiques	6
Star-métaphases	3
Chromosomes aberrants anaphasiques	1
Ponts anaphasiques	6
Ponts télophasiques	5
Stathmométaphases	2
Hémianaphases	4

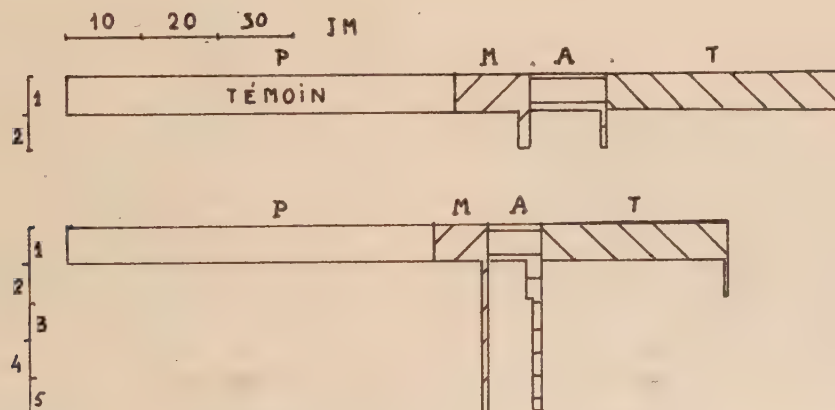
Après 24 heures, les méristèmes traités présentent toujours une activité mitotique sensiblement égale à celle des témoins. Les anomalies cytologiques analogues aux précédentes sont observées ainsi que de très rares cellules polynucléées et leur nombre ne semble pas en progression. La croissance des racines reste normale (moyenne de 3,5 mm contre 3,9 mm chez les témoins).

Après 48 heures et 3 jours de traitement, l'examen des méristèmes conduit à des résultats analogues : activité mitotique normale, rares troubles cytologiques. Cependant quelques cellules binucléées en mitose sont observées à partir du 3^{ème} jour. Les index mitotiques des sujets traités pendant 3 jours sont de 106,5 et 105,9 contre 121 et 116,4 chez les témoins, et nous notons un faible ralentissement des télophases se traduisant par une légère accumulation de ce stade (32 et 31 % des cinèses contre 27,3 et 24 %). L'allongement des racines reste normal : moyenne de croissance de 7,3 mm contre 7,5 mm chez les témoins le 2^{ème} jour, et moyenne de 6,2 mm contre 6,6 mm le 3^{ème} jour.



GRAPHIQUE 11 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL 10^{-3} M. 3 JOURS.

Après le 4^{ème} jour de traitement, les index mitotiques restent encore élevés (93,4 et 87,4 contre 102,4 et 101,1 chez les témoins) mais les stades métaphasiques et anaphasiques sont en légère baisse.



GRAPHIQUE 12 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL 10^{-3} M. 4 JOURS.

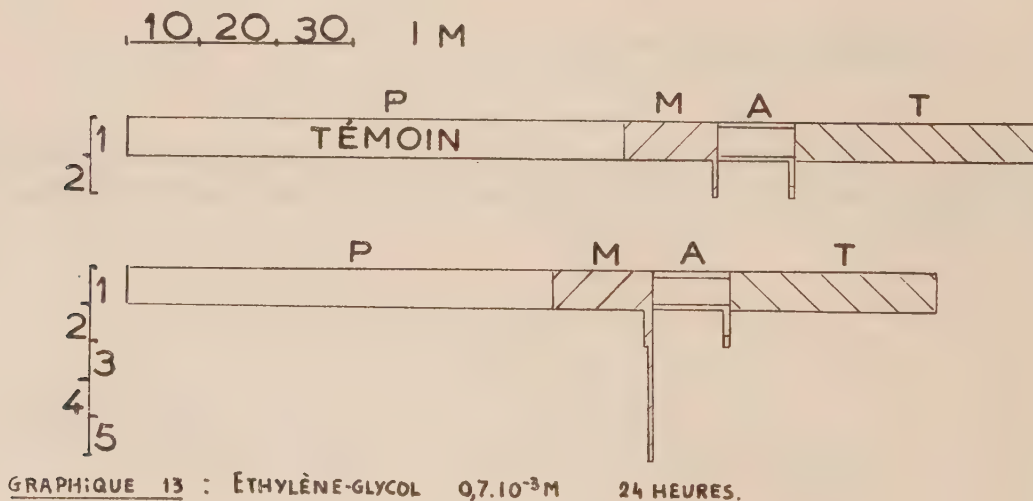
En dehors de rares troubles mitoclasiques déjà signalés, nous constatons l'apparition dans quelques cas, de contraction chromosomique. La croissance des racines traitées se poursuit normalement (moyenne de 5,1 mm contre 6,3 mm chez les témoins).

Si nous poursuivons le traitement au-delà de 4 jours, nous notons une lente diminution de l'activité mitotique, la persistance des anomalies cytologiques citées précédemment, anomalies dont le nombre reste toujours peu élevé. Même après le 7ème jour, les méristèmes traités se montrent encore actifs, cependant la croissance des racines ne représente plus que 1,8 mm de moyenne contre 6 mm chez les témoins.

c) Concentration de 0,7 molécule par litre.

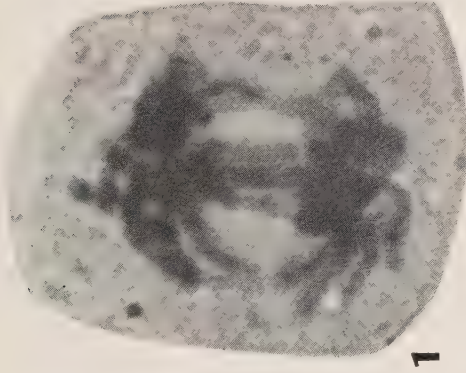
Un traitement de 4 heures nous montre un aspect normal des méristèmes. A partir de 8 heures, l'activité mitotique est encore normale mais déjà un léger début de l'action mitoclasique de l'éthylène-glycol se manifeste par l'apparition d'anomalies cytologiques -très rares- telles que des stathmocinèses des ponts chromosomiques enfin des chromosomes aberrants.

Après 24 heures, les index mitotiques sont de 106,5 et 104,7 contre 130 et 120 chez les témoins. Les divers stades de la cinèse sont dans des proportions normales et à côté des troubles cytologiques cités il apparaît quelques rares cellules binucléées.

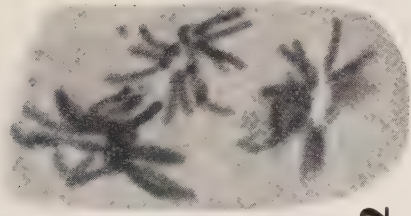


L'allongement des racines traitées est sensiblement égal à celui des témoins (moyenne de 4,5 mm contre 4,9 mm).

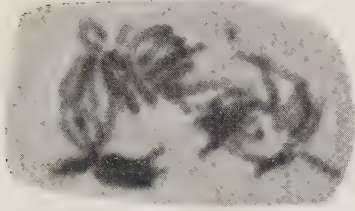
L'examen des prélèvements des jours suivants jusqu'au 7ème jour nous conduit à des résultats analogues : mitoses nombreuses et normales, légère action mitoclasique de l'éthylène-glycol. Les index mitotiques des méristèmes traités pendant 4 jours sont encore élevés (97,1 et 91,9 contre 127,7 et 121,5 chez les témoins) et nous notons en outre la présence de très rares cellules polynucléées en mitose (photos 8 à 11). Les index mitotiques



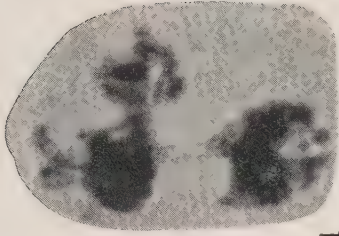
1



2



3

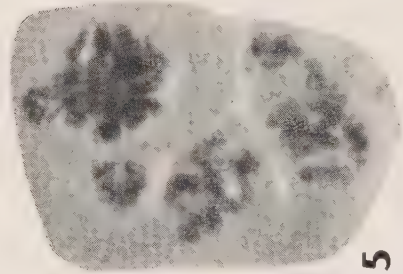


4

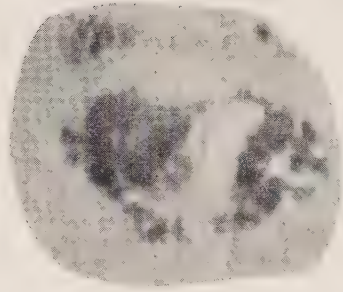
ÉTHYLÈNE - GLYCOL

2.10³ M = 1 : UNE HEURE - PONT ANAPHASIQUE.

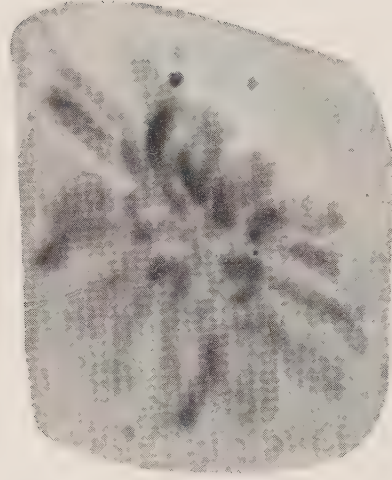
2-3 : HUIT HEURES - HÉMIANAPHASES. 4 : HUIT HEURES - HÉMITÉLOPHASE AVEC PONT.



5



6

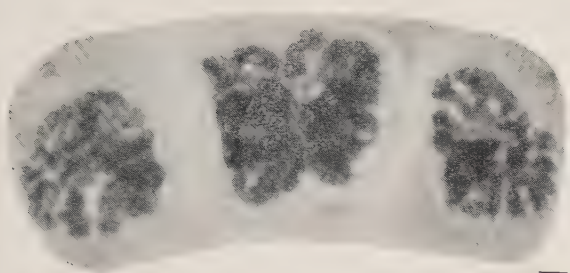


7

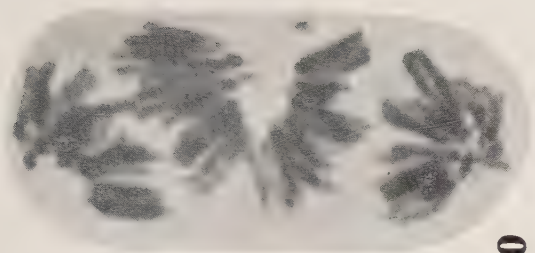
ÉTHYLÈNE - GLYCOL

2.10³ M = 5-6 : 24 HEURES - CELLULES POLYNUCLÉÉES.

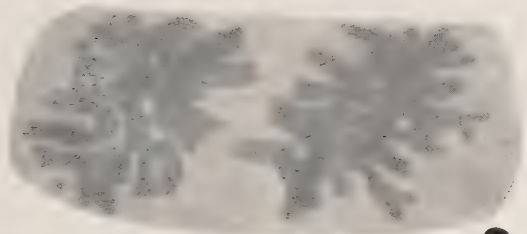
10³ M = 7 : 4 HEURES - MÉTAPHASE EN ÉTOILE.



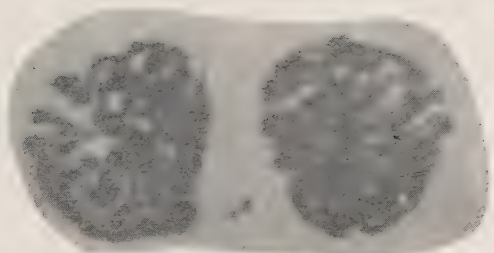
11



10



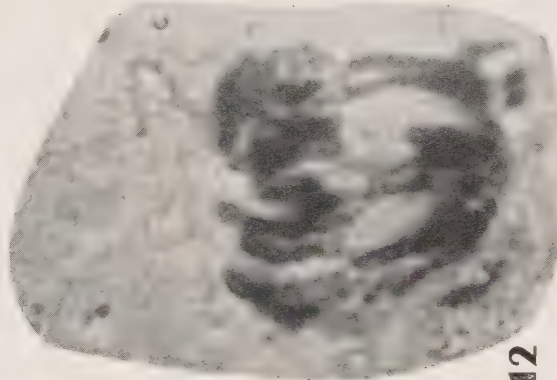
9



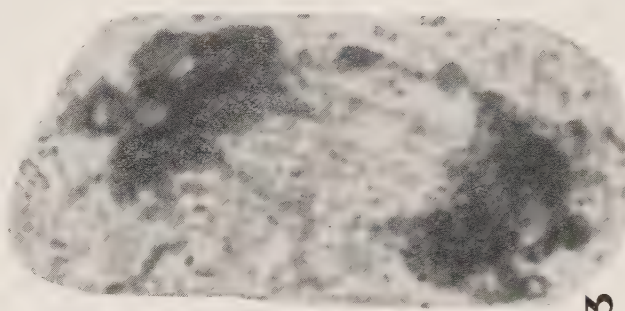
8

ÉTHYLÈNE - GLYCOL

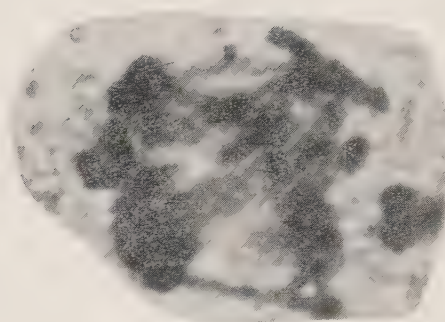
0,7.10³ M 8-9-10-11 = 4 JOURS - CELLULES BINUCLÉÉES EN MITOSE.



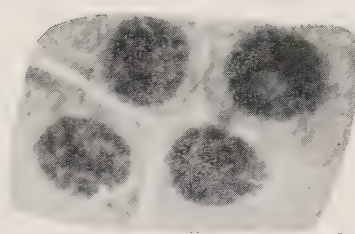
12



13



14



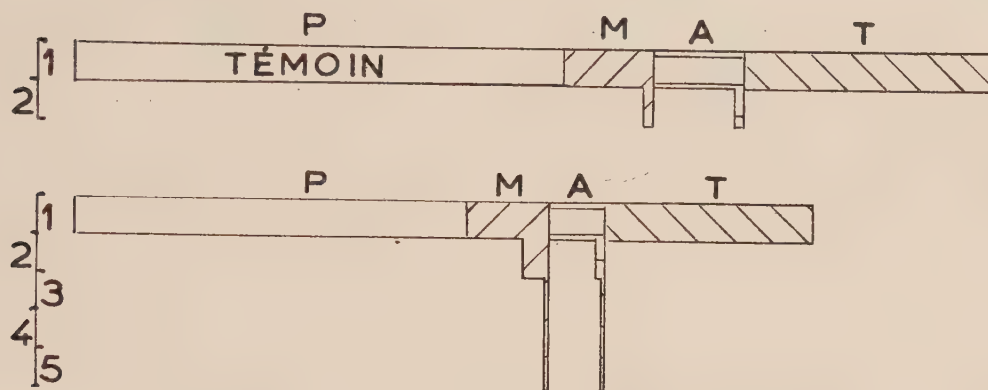
15

PROPYLÈNE - GLYCOL

2.10³ M 12 : 1 HEURE - ANAPHASE AVEC PONT. 13 : 24 HEURES - TÉLOPHASE AVEC PONT. 14 : 24 HEURES - HÉMITÉLOPHASE AVEC PONT. 10³ M 15 : 24 HEURES - CELLULE TÉTRANUCLÉÉE.

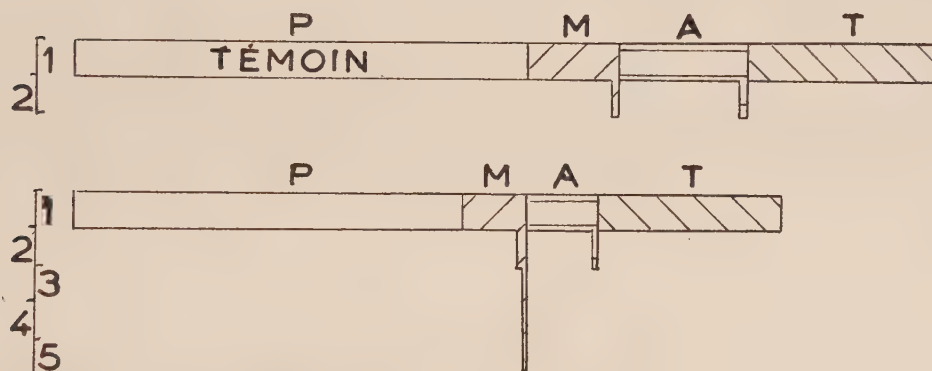
des prélèvements de 7 jours de traitement nous donnent des chiffres de 100 et 93,8 contre 116,9 et 114,5 chez les lots témoins ; les troubles cytologiques sont en très petite quantité (moins de 5 % des mitoses). La croissance des racines traitées se poursuit normalement et au 7ème jour elle est de 3,8 mm en moyenne contre 4,2 mm chez les témoins.

10 20 30 1 M



GRAPHIQUE 14 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL $0,7 \cdot 10^{-3} M$. 4 JOURS.

10 20 30 1 M

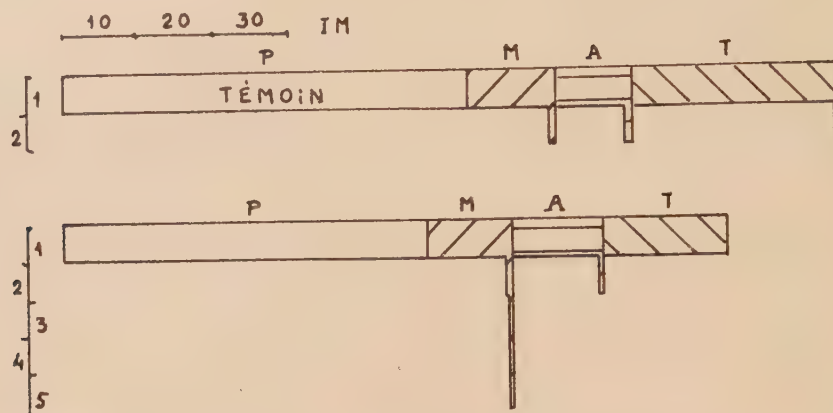


GRAPHIQUE 15 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL $0,7 \cdot 10^{-3} M$. 7 JOURS.

d) Concentration de 0,5 molécule par litre

A cette concentration, l'éthylène-glycol exerce encore une très légère action sur l'activité mitotique. En effet, les prélèvements des méristèmes de 4 heures, 24 heures, 48 heures et 3 jours de traitement nous présente une activité normale. Ce n'est qu'à partir du 4ème jour que nous notons l'apparition de très rares ponts anaphasiques et télophasiques, et de stathmocinèses (2 à 3 par méristème) ; les index mitotiques sont alors de

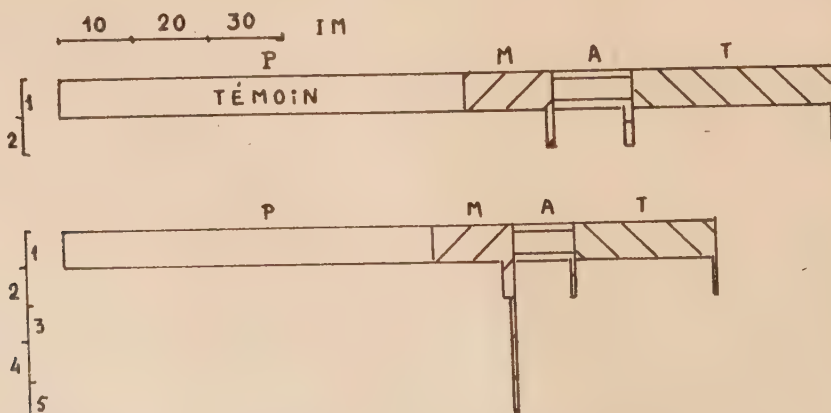
97,9 et 96,7 contre 102,4 et 101,1 chez les témoins. La croissance des racines soumises au traitement est sensiblement parallèle à celle des témoins (moyenne de 5,9 mm contre 6,3 mm chez les témoins le 5ème jour).



GRAPHIQUE 16 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL $0,5 \cdot 10^{-3} M$. 4 JOURS.

e) Concentration de 0,2 molécule par litre

Après un traitement de plusieurs jours à cette concentration, l'éthylène-glycol ne commence à manifester une très légère action mitoclasique qu'à partir de 4 jours (2 à 3 ponts chromosomiques et stathmocinèses par méristème au maximum). La majorité des mitoses reste normale et les index mitotiques sont de 96,1 et 94,6 contre 102,4 et 101,1 chez les lots témoins le 4ème jour. L'allongement des racines traitées n'est pas perturbé et il reste sensiblement égal à celui des témoins.



GRAPHIQUE 17 : ÉTHYLÈNE-GLYCOL $0,2 \cdot 10^{-3} M$. 4 JOURS.

III - Conclusions

Il ressort de nos expériences que l'éthylène-glycol se montre très toxique à la concentration de 2 molécules par litre (mort en moins de 48 heures) ; on observe également dans ces conditions une action mitoclasique (paralysie fusoriale) et chromatoclasique (ponts chromosomiques provenant d'agglutination) modérée (50 % des mitoses sont altérées après 24 heures de traitement). Si le traitement est de courte durée (à partir de 1 heure) l'intoxication évolue néanmoins vers la mort en moins de 48 heures, même si les racines sont reportées sur liquide de Knop dilué au demi. Aux concentrations de 1 molécule et de 0,7 molécule par litre, l'activité mitotique reste sensiblement normale les premiers jours les actions mitoclasiques et chromatoclasiques apparaissent de bonne heure mais restent toujours très faibles. Aux concentrations de 0,5 molécule et de 0,2 molécule par litre sont pratiquement inactives, mais provoquant cependant l'apparition à partir du 4ème jour de quelques très rares figures mitotiques anormales.

Ces résultats concordent en gros avec ceux qu'Ostergren avait obtenus sur l'*Allium Cepa*. Cependant, nous observons que l'action léthale de l'éthylène-glycol se produit avec des concentrations un peu supérieures et, d'autre part, que les faibles concentrations, trouvées inactives par Ostergren, provoquent l'apparition de rares mitoses anormales.

En conclusion, il est possible d'utiliser l'éthylène-glycol, comme adjuvant pour des expériences sur l'*Allium sativum*, à une concentration maximum de 0,5 molécule par litre pendant une durée de 3 jours. Au-delà, des troubles mitotiques se manifesteraient sous l'influence de ce solvant.

C - ACTION du PROPYLENE-GLYCOL -

I - Données bibliographiques

Ici nous ne disposons d'aucune indication bibliographique. Aussi nous entreprenons l'étude de l'action du propylène-glycol avec des concentrations parallèles à celles que nous avons utilisées dans le cas de l'éthylène-glycol.

II - Expériences personnelles

Un grand nombre de concentrations du propylène-glycol (de 0,0001 à 2 molécules p a r litre) ont été expérimentées sur le Blé, sur le Pois et sur l'Ail. Nous cherchons à étudier les diverses actions possibles de ce corps : action stimulante éventuelle des faibles concentrations sur la germination et sur la croissance des grains de Blé, sur la croissance des plantules de Pois, enfin action cytologique des plus fortes concentrations sur les cellules méristématiques des racines d'Ail.

1. Expériences sur le Triticum vulgare L.

Dans les expériences sur la germination et sur la croissance des grains de Blé, nous employons des concentrations allant de 0,0001 à 0,1 molécule par litre dans le but de rechercher une action stimulante éventuelle du propylène-glycol.

a) Germination

Les résultats de la germination sont résumés dans le tableau ci-dessous ; et les mesures numériques de la croissance des tigelles et des racelles du Blé sont pratiquées sur le même lot de grains.

Après 48 heures de traitement

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	grains commençant à germer	grains non germés
Témoins	95	2	3
0,1 molécule/litre	96	2	2
0,05 "	89	5	6
Témoins	93	7	0
0,01 molécule/litre	94	4	2
0,05 "	96	2	2
			./...

./ ...			
Témoins	99	0	1
0,001 molécule/litre	95	3	2
0,0001 "	92	6	2

b) CroissanceAprès 48 heures de traitement

Moyenne en m/m des	Tigelles	Radicelles
Témoins	3,2	7,4
0,1 molécule/litre	3	6,3
0,05 "	3,2	6,9
Témoins	4	11
0,01 molécule/litre	3,9	10,9
0,05 "	4,3	10,5
Témoins	5,1	17,6
0,001 molécule/litre	5,2	17,9
0,0001 "	5,4	17,7

Nous constatons donc qu'aucune action stimulante ne s'est manifestée aux concentrations utilisées tant sur la germination que sur la croissance du Blé.

2. Expériences sur le Pisum sativum L.

Avec des concentrations supérieures (de 0,001 à 0,5 molécule par litre) les nombres suivants sont obtenus :

Moyenne en mm en	1jour	2jours	3jours	4jours	5jours	6jours	7jours
Témoins	12,8	12,8	12,2	9,7	11,9		16,7
0,5 mol./litre	9,9	8,3	7,2	4,3	4,6		4,8
0,2 "	12,6	12,7	9	7,5	8,5		8,3
0,1 "	12,1	12,8	12	8,9	8,4		10,6
0,01 "	12,2	13	12,3	9,5	9		12,4
Témoins	14,1	12,1	10,6	10,5	11,1		21,8
0,4 mol./litre	12,5	9,3	7,4	5,6	4		4,8
0,3 "	13,5	9,6	7,5	7,1	4,1		4,8
0,05 "	13,9	11,6	10,5	9,6	10,2		12,5
0,001 "	14,1	11,7	10,6	10,1	10,4		19,2

Donc, aucune action stimulante ne se manifeste avec de faibles concentrations du propylène-glycol (ce qui corrobore les résultats des expériences sur le blé), mais une action dépressive sur la croissance des plantules de Pois est observée à partir de la concentration de 0,01 molécule par litre en 5 jours.

3. Expériences sur l'*Allium sativum* L.

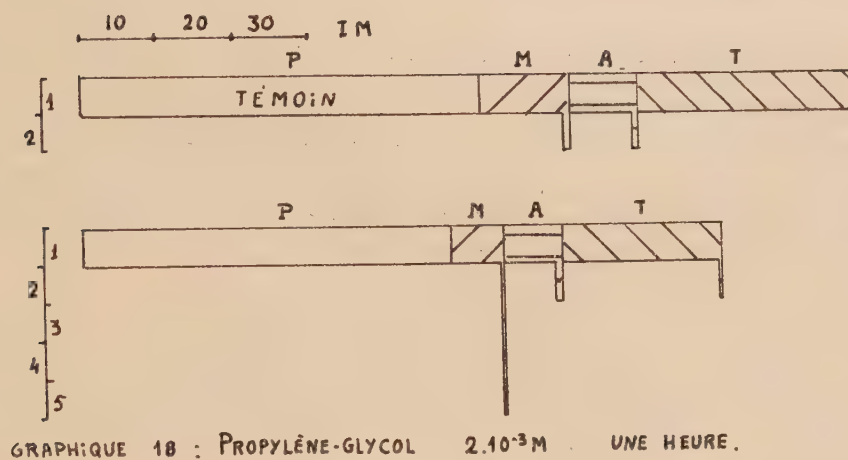
Nous avons effectué nos expériences sur l'Ail avec des concentrations plus élevées de propylène-glycol (de 0,2 à 2 molécules par litre) en vue d'une étude cytologique détaillée.

a) Concentration de 2 molécules par litre

À cette concentration, le propylène-glycol manifeste vis-à-vis des méristèmes des racines d'Ail une toxicité forte, une action mito-dépressive et une action mitoclasique précoces.

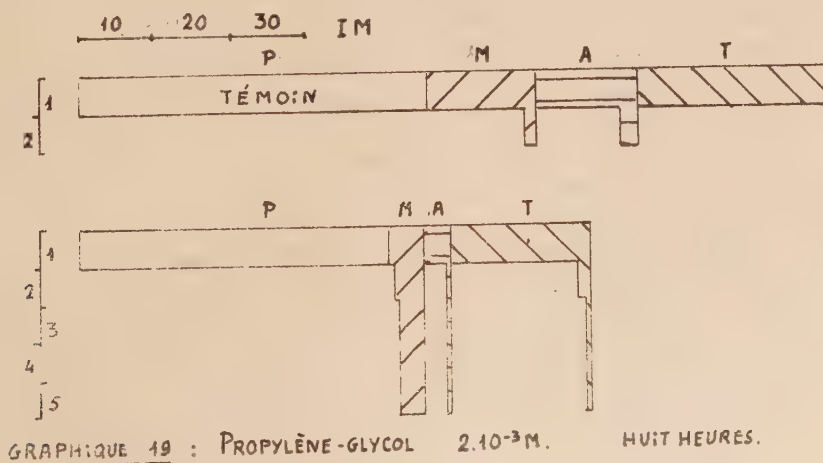
Après une heure de traitement, le propylène-glycol exerce une légère action mito-dépressive : les index mitotiques sont de 84,8 et de 80 contre 102,2 et 100,9 chez les lots témoins. Nous notons, en outre, un début de contraction chromosomique, quelques très rares anomalies telles que des stathmocinèses et des ponts chromosomiques (3 à 5 par méristème examiné (photo 12)). Le report des racines traitées dans le liquide de Knop dilué au demi nous montre, 24 heures plus tard, la disparition presque totale des mitoses, un gonflement du réseau de chromatine et, par places, on observe des noyaux pycnotiques. Les racines s'allongent encore dans les premières heures qui suivent la cessation du traitement (moyenne

de 0,8 mm en 24 heures contre 2,6 mm chez les témoins) et deviennent flaccides à partir de 48 heures.



Un traitement de 4 heures nous révèle une activité mitotique intense encore, mais le nombre des anomalies cytologiques, précédemment citées, est en augmentation.

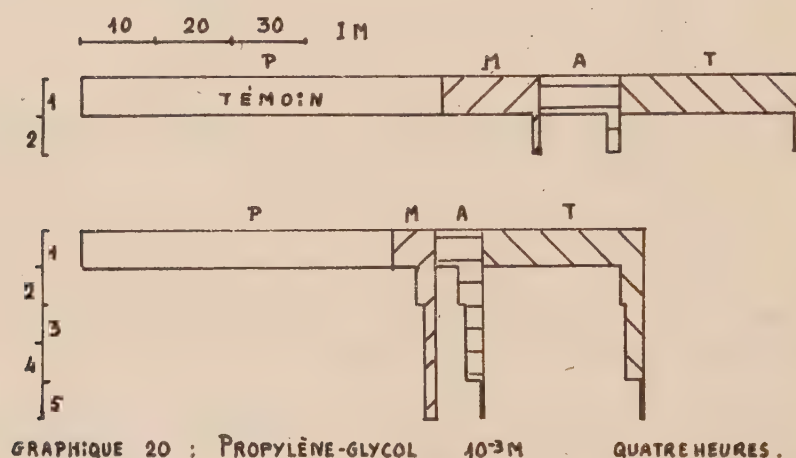
Si nous poursuivons l'expérience à cette concentration, nous constatons, à partir de 8 heures de traitement, une mito-dépression nette (index mitotiques de 67,8 et 67,5 contre 100 et 91,5 chez les témoins). Les troubles cytologiques tels que les agglutinations des chromosomes, les stathmocinèses et les hémicinèses (photos 13, 14) sont en accroissement important puisqu'ils représentent un tiers environ des mitoses numérées. Les stades métaphasique et anaphasique sont en diminution sensible : respectivement 1 et 4,3 % des cinèses contre 13 et 11,3 % chez le témoin pour le premier méristème, 0,70 et 7,3 % contre 11 et 12,3 % pour le second.



Un traitement de 24 heures provoque la disparition quasi totale des mitoses et on note un léger début de pycnose des noyaux quiescents. Après 24 heures de mise en retour de ces sujets dans le liquide de Knop dilué au demi, on observe une pycnose presque totale dans les méristèmes prélevés tandis que la croissance est arrêtée et leur aspect devient flaccide.

b) Concentration de 1 molécule par litre

Après 4 heures de traitement, nous notons une légère mito-dépression (index mitotiques de 85,3 et 74,8 contre 95,8 et 94,2 chez les témoins), l'apparition de quelques troubles cytologiques (8,5 à 10 % des cinèses numérees) tels que les ponts chromosomiques, les stathmocinèses et les hémicinèses. Cependant, les stades métaphasique et anaphasique représentent moins de la moitié de ceux des témoins.



Un traitement de 24 heures produit une mito-dépression forte. Nous avons recours à une numération totale dans les méristèmes prélevés pour obtenir ces nombres.

Méristème I

Nbre total de cinèses numérees	127	%
Prophases	57	44,87
Métaphases	2	1,57
Anaphases	4	3,15
Télophases	34	26,78
Tropotélophases	1	0,79
Hémianaphases	1	0,79
Hémitélophases	28	22,05

Méristème II.

Nbre total de cinèses numérees	97	%
Prophases	57	58,77
Métaphases	2	2,06
Anaphases	2	2,06
Télophases	22	22,68
Hémitélophases	14	14,43

On note une quantité importante de cellules bi, tri, tétra et même polynucléées: 248 dénombrées dans le premier méristème et 219 dans le second (photo 15). 24 heures après leur report dans le liquide de Knop dilué au demi, les racines sont turgescentes, translucides ; l'examen cytologique des prélèvements nous montre de très rares mitoses, représentées uniquement par des prophases, des cellules polynucléées et une pycnose importante des noyaux quiescents.

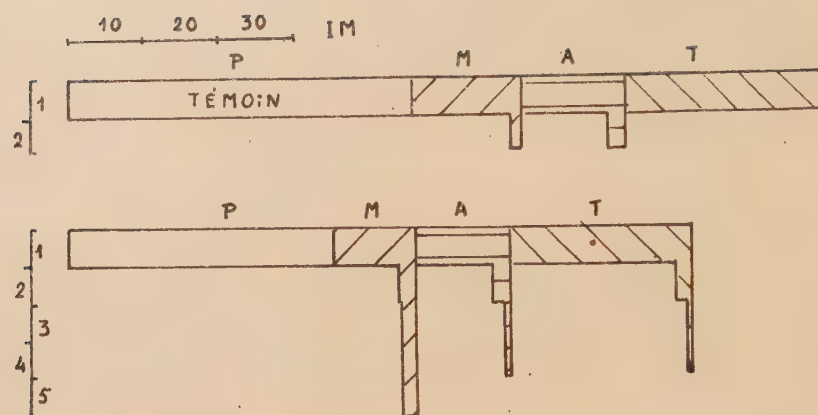
Après 48 heures de traitement, on observe une disparition totale des mitoses et on retrouve les cellules polynucléées. Si nous poursuivons l'expérience, au bout de 3 jours, nous observons en plus de la mito-dépression totale un commencement de pycnose de noyaux quiescents.

La croissance des racines traitées à cette concentration est fortement entravée à partir de 48 heures et arrêtée après 3 jours : moyenne de 1 mm contre 8 mm chez les lots témoins le 2ème jour, moyenne de 0,6 mm contre 9 mm le 3ème jour. L'allongement des sujets traités pendant 3 jours reste nul après leur report dans le liquide de Knop dilué au demi.

c) Concentration de 0,7 molécule par litre

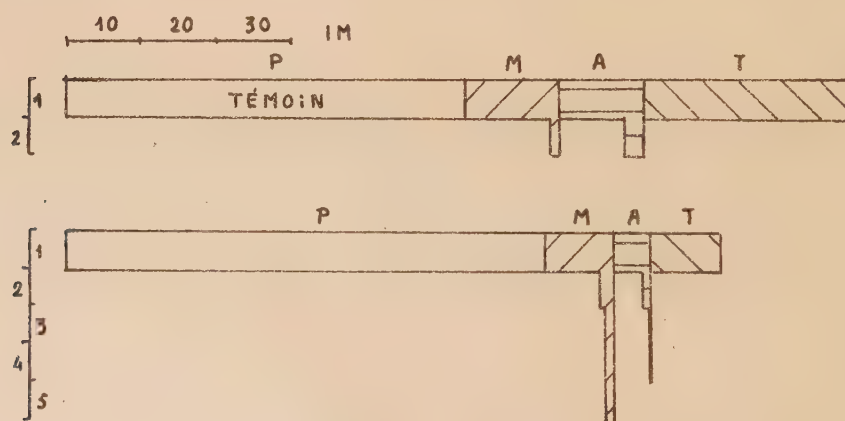
Cette concentration de propylène-glycol n'agit pas sur les méristèmes d'ail après un traitement de 4 heures. A partir de 8 heures, si l'activité mitotique reste sensiblement normale (index mitotique de 82,8 et 78,7 contre 100 et 91,5 chez les témoins) on observe un léger début d'action se traduisant par de rares troubles cytologiques (3 à 4 % de cinèses numérees) tels que des ponts chromosomiques, des stathmocinèses et des hémicinèses.

./...



GRAPHIQUE 21 : PROPYLÈNE-GLYCOL $0,7 \cdot 10^{-3} M$ HUIT HEURES

Un traitement de 24 heures nous fournit des résultats analogues. Après 48 heures, les méristèmes traités présentent encore une activité mitotique intense (index mitotiques de 91,1 et 86,8 contre 105,5 et 104,1 chez les témoins) ; mais à côté des troubles cytologiques cités, une légère agglutination chromosomique et une forte accumulation prophasique sont observées (73,4 et 71,3 % des cinèses sont des prophases contre 51 & 49,3 % chez les cinèses).



GRAPHIQUE 22 : PROPYLÈNE-GLYCOL $0,7 \cdot 10^{-3} M$ 48 HEURES

Des résultats semblables sont obtenus après 3 jours de traitement. Mais à partir du 4ème jour, l'action du propylène-glycol s'accroît ; la mito-dépression devient forte et des numérations totales sont nécessaires. On note, en plus des troubles cytologiques signalés précédemment, l'apparition de très rares prophases en régression après 4 jours d'expérience, un début d'homogénéisation de la chromatine après le 5ème jour.

La croissance des racines est inhibée progressivement comme le montrent ces nombres : moyenne de 2 mm contre 5,2 mm chez les témoins le 3ème jour, moyenne de 1 mm contre 4, 8 mm le 4ème jour, moyenne de 0,5 mm contre 4,7 mm le 5ème jour et l'allongement cesse à partir du 6ème jour.

Les résultats des numérations totales des 4ème, 5ème et 7ème jours d'expérience sont résumés dans les tableaux suivants. Ceci nous montre l'action dépressive et continue du propylène-glycol.

Méristème I

Nombre total de cinèses numérées	263	%
Prophases (dont 3 en voie de régression)	208	79,08
Métaphases (dont 4 à chromosomes aberrants)	8	3,05
Tropométaphases	1	0,38
Stathmométaphases	7	2,66
Anaphases	5	1,90
Tropoanaphases	1	0,38
Télophases (dont 1 avec pont chromosomique)	33	12,55
Cellules binucléées	29	{ 20 % des cinèses numérées
" trinucléées	35	
" tétranucléées	1	

Méristème II

Nbre total de cinèses numérées	271	%
Prophases (dont 4 en voie de régression)	181	66,80
Métaphases (dont 6 à chromosomes aberrants)	18	6,65
Tropométaphases	3	1,10
Stathmométaphases	9	3,32
Anaphases (dont 1 avec pont chromosomique)	13	4,80
Tropoanaphases	4	1,47
Stathmoanaphases	1	0,36
Télophases	38	14,04
Tropotélophases	1	0,36
Hémitélophases	3	1,10
Cellules binucléées	23	{ 27% des cinèses numérées
" trinucléées	69	
" tétranucléées	7	

Numérations totales après 4 jours d'expérience

Méristème I

Nbre total de cinèses numérées	14	%
Prophases (dont 4 en voie de régression)	14	100
Cellules binucléées	5	{ 63 %des cinèses numérées
" trinucléées	18	
" tétranucléées	1	

Méristème II

Nbre total de cinèses numérées	58	%
Prophases (dont 14 en voie de régression)	47	81,03
Stathmométaphases	1	1,95
Télophases (dont 3 avec pont chromosomique)	10	17,02
Cellules binucléées	20	{ 50% des cinèses numé- rées
" trinucléées	25	
" tétranucléées	3	
" pentanucléées	1	

Numérations totales après 5 jours d'expérience

Méristème I

Nbre total de cinèses numérées	10
Prophases	10
Cellules binucléées	1
" trinucléées	4

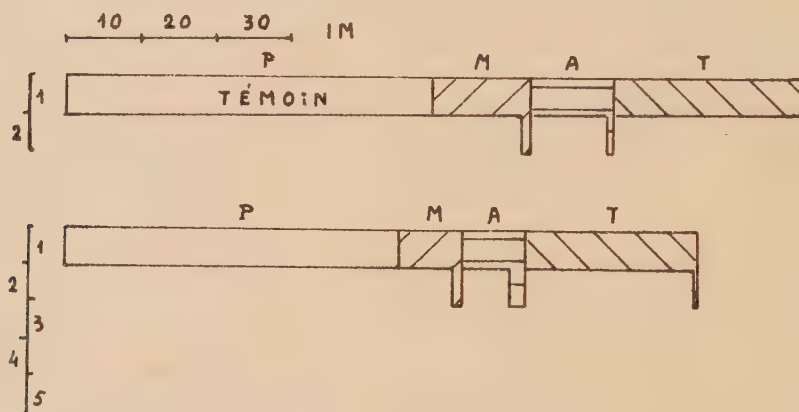
Méristème II

Nbre total de cinèses numérées	8
Prophases	7
Métaphases	1
Cellules binucléées	3
" trinucléées	15

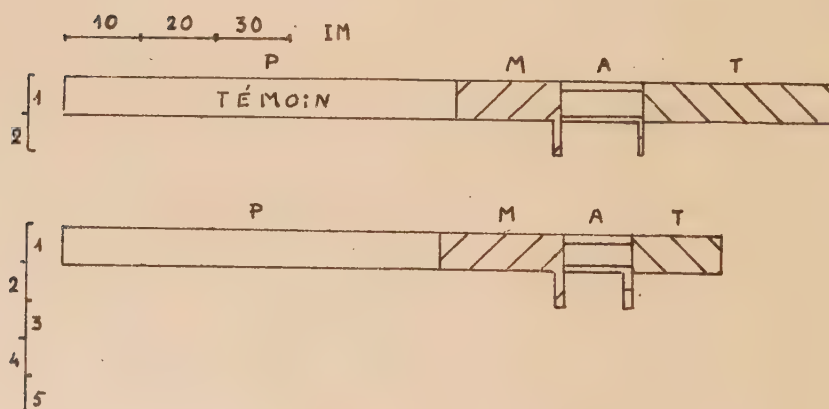
Numérations totales après 7 jours d'expériences

d) Concentration de 0,5 molécule par litre

Cette concentration de propylène-glycol est faiblement active. En effet, l'examen des prélèvements des méristèmes de 4 heures à 7 jours de traitement nous montre une activité mitotique intense et normale. Les index mitotiques sont de 84,7 et 83,6 contre 100 et 97,3 chez les témoins après 3 jours d'expérience, et de 87 et 84,6 contre 102 et 98,8 après le 7ème jour. De très rares figures cytologiques anormales telles que des hémicinèses, des stathmocinèses et des chromosomes aberrants - au nombre de 3 à 4 par méristème au maximum - sont observées à partir de 4 jours de traitement. Les ponts chromosomiques - 1 à 2 au maximum - n'apparaissent qu'après le 6ème jour.



GRAPHIQUE 23 : PROPYLÈNE-GLYCOL $0,5 \cdot 10^{-3} M$ 3 JOURS.



GRAPHIQUE 24 : PROPYLÈNE-GLYCOL $0,5 \cdot 10^{-3} M$ 5 JOURS.

La croissance des racines reste sensiblement égale à celle des lots témoins jusqu'au 4ème jour de traitement, elle est légèrement ralentie ultérieurement : moyenne de 3,5 mm contre 5,3 mm le 5ème jour, 3mm contre 6 mm le 6ème jour et 2,3 mm contre 5mm le 7ème jour.

e) Concentration de 0,2 molécule par litre

Le propylène-glycol est pratiquement inactif sur les méristèmes des racines d'ail à cette concentration. Des prélèvements échelonnés de 4 heures à 7 jours de traitement nous offrent un aspect normal des cellules et une activité mitotique intense. Les index mitotiques sont de 87,2 et 81,9 contre 100 et 97,3 chez les témoins le 3ème jour, de 90,2 et 87,1 contre 102 et 98,8 le 7ème jour.

L'allongement des racines traitées reste sensiblement égal à celui des lots témoins.

III - Conclusions

Il ressort de nos travaux que le propylène-glycol présente une forte activité vis à vis des mitoses aux concentrations supérieures à 0,7 molécule par litre.

Sa toxicité est grande à la concentration de 2 molécules par litre qui provoque la mort en moins de 48 heures. On note l'apparition précoce d'une action mitoclasique (paralysie fusoriale) et chromatoclasique (ponts provenant d'agglutination) intenses : 30 % des cinèses sont altérées après 8 heures de traitement. Si on reporte les racines traitées pendant 1 heure dans le liquide de Knop dilué au demi, l'intoxication évolue vers la mort en moins de 48 heures.

A la concentration de 1 molécule par litre, on observe une diminution sensible de la proportion des stades métaphasiques et anaphasiques après 4 heures de traitement ainsi qu'une légère baisse de l'activité mitotique. Les actions mitoclasique et chromatoclasique, qui restent modérées, apparaissent de bonne heure ; l'action mitodépressive est telle que la disparition totale des cinèses est notée à partir de 48 heures de traitement - précédant la mort qui survient peu de temps après.

A la concentration de 0,7 molécule par litre, l'activité mitotique reste sensiblement normale les deux premiers jours de traitement. A partir de 48 heures une accumulation prophasique est notée. L'action mitodépressive devient forte, ce qui rend nécessaire des numérations totales des méristèmes prélevés à partir de 4 jours d'expérience. La mort survient au bout du 5ème jour.

La concentration de 0,5 molécule par litre est pratiquement inactive sur le rythme des entrées en mitose. Mais elle provoque, à partir du 4ème jour, l'apparition de très rares figures mitotiques anormales et un léger ralentissement de l'allongement des racines.

Enfin la concentration de 0,2 molécule par litre se montre inactive sur les méristèmes des racines d'ail soumises à un traitement prolongé.

Nous remarquons que le Pois s'est montré plus sensible à l'action inhibitrice de la croissance, le propylène-glycol ralentissant l'allongement des plantules à des concentrations inférieures à 0,5 molécule par litre.

Si nous comparons ces résultats à ceux que nous avons obtenus avec l'éthylène-glycol nous remarquons que le propylène-glycol se montre plus toxique : à 0,7 molécule par litre, en effet, il provoque la mort en 5 jours après disparition presque complète des mitoses ; dans les mêmes conditions, l'éthylène-glycol ne modifie pas sensiblement l'activité mitotique.

En conclusion, il est possible d'utiliser le propylène-glycol comme adjuvant à la concentration de 0,5 molécule par litre pendant 3 jours au maximum ou bien à une concentration inférieure pendant une durée plus longue.

2

2 2

D - ACTION du GLYCEROL -

I - Données bibliographiques

En ce qui concerne l'action du glycérol sur la cellule nous ne possédons que de très peu de données bibliographiques.

G. Ostergren (68-69) en 1944, a rangé le glycérol parmi les substances possédant une action mitoclasique faible ou même nulle ; selon cet auteur la très faible pénétrabilité du glycérol dans la cellule contribue à rendre difficile la démonstration d'une faible activité éventuelle. B.J. Luyet et F. Gonzalès (53), en 1952, ont étudié l'action protectrice du glycérol contre les lésions causées par la congélation dans les tissus embryonnaires et ils ont conclu que des fragments de coeur embryonnaires, préalablement traités par le glycérol, peuvent, après immersion dans de l'azote liquide, se multiplier activement in vitro. En 1956, J. Sivadjan (85), dans une étude de l'action du glycérol sur la transpiration des feuilles et sur la perméabilité cuticulaire, a trouvé que le traitement des feuilles par une solution de glycérol à 1 % augmente sensiblement la perméabilité cuticulaire et, par conséquent, la transpiration foliaire.

Nantis de ces quelques renseignements, nous allons entreprendre nos recherches sur le Blé, sur le Pois et sur l'Ail, suivant notre plan d'étude habituel.

II - Expériences personnelles

1°) Expériences sur le Triticum vulgare L.

Nous commençons l'étude de l'action du glycérol sur la germination et sur la croissance en nous servant des grains de Blé comme matériel d'expérience.

a) Germination

De très faibles concentrations de glycérol - 0,005, 0,01 et 0,05 % en poids - ont été mises en oeuvre afin de rechercher une action stimulante ou inhibitrice sur la germination des grains de Blé.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

./...

Après 48 heures d'expérience :

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	Grains commençant à germer	Grains non germés
Témoins	86	8	6
0,05 % g	89	10	1
0,01 % g	89	7	4
0,005 % g	92	6	2

b) Croissance

Les expériences précédentes nous fournissent en même temps des résultats quant à l'influence du glycérol sur la croissance des tigelles et des racicelles des grains de Blé traitées.

Le tableau ci-dessous groupe tous les résultats obtenus.

Moyenne en mm des	Tigelles	Radicelles
Témoins	4,6	16,4
0,05 % g	4,4	16,1
0,01 % g	4,7	16,5
0,005 % g	4,2	16,6

Nous constatons donc qu'aucune action stimulante ou inhibitrice de la germination ou de la croissance des tigelles et des racicelles des grains de Blé n'est observée aux concentrations utilisées.

2°) Expériences sur le Pisum sativum L.

Des concentrations de 0,01 à 5 gr % du glycérol sont mises en oeuvre ici. Les allongements moyens des racines de Pois sont déterminés et les nombres obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Moyenne des allongements en mm en	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours
Témoins	9,1	10,4	13,1	12,8	13,4		21,6
5 % en poids	6,5	4,4	3,2	2,4	2,2		2,5
2,5 % "	7,5	5,7	4,2	3,9	4		4,7
1 % "	7,6	5,9	5,7	4,9	5		5,3
0,5 % "	7,7	6	5,9	5,6	5,1		7,1
0,1 % "	9	10,2	11	8,6	5,7		6,8
Témoins	11,5	12,5	12,5	12,7	11,9		23,4
0,1 % en poids	11,7	11,8	8	10,9	6,8		9,7
0,05 %	11,7	12,5	12,2	12,2	10,3		23
0,01 %	11,6	12,9	12,4	12,6	11,8		23,1

Nous constatons donc que le glycérol inhibe l'allongement des racines des plantules de Pois à partir de la concentration de 0,1 % en poids (au bout du 3ème jour). A aucun moment nous n'avons observé une action stimulante de la croissance aux concentrations inférieures.

3^e) Expériences sur l'*Allium sativum* L.

Après les travaux sur le Blé, puis sur le Pois, nous continuons sur l'Ail en vue d'une étude cytologique détaillée avec des concentrations de 1 à 10 % en poids de glycérol.

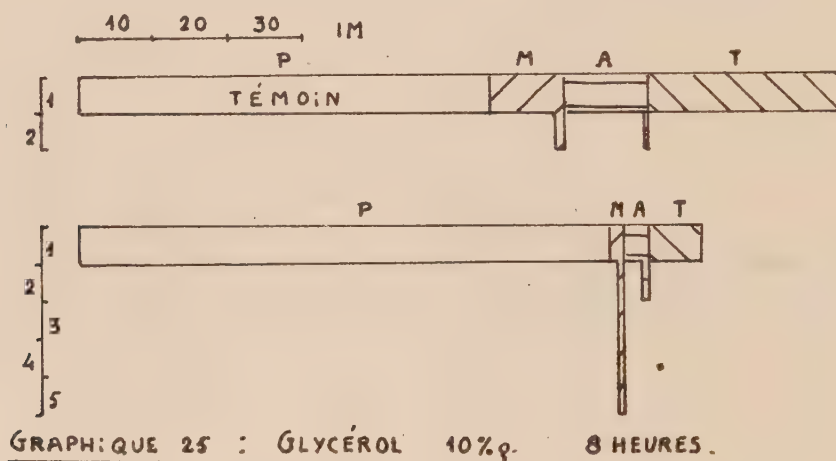
a) Concentration à 10 g. %

La concentration mise en oeuvre est assez active. L'action du glycérol se manifeste d'une manière précoce, tant sur l'activité mitotique des méristèmes que sur l'allongement des racines traitées.

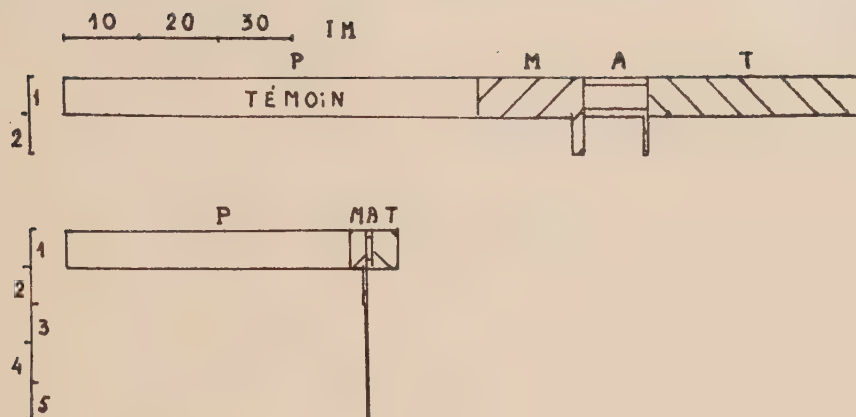
Après un traitement de 4 heures, les cinèses sont nombreuses et normales. Si nous interrompons l'expérience et reportons sur liquide de Knop dilué au demi, des résultats variables sont obtenus: dans certains cas l'intoxication n'évolue pas néanmoins vers la mort à partir du 3ème jour, mort se manifestant par la disparition totale des mitoses, par la présence des plages pycnotiques et par l'aspect flaccide des racines ; dans d'autres nous observons une détoxication rapide et une reprise normale de l'activité mitotique 24 heures

plus tard. Les méristèmes prélevés, dans ces conditions, nous montrent des mitoses nombreuses et normales mais aussi quelques figures cytologiques anormales - très rares il est vrai - telles que des prophases en régression, des chromosomes contractés et des métaphases désorganisées, de ponts chromosomiques et des cellules binucléées. Ce qui montre que la durée d'un traitement de 4 heures est une durée-limite, au-delà de laquelle l'intoxication devient irréversible et évolue vers la mort.

Après un traitement de 8 heures, les mitoses restent encore normales dans la majorité des cas, mais nous constatons déjà la présence de très rares anomalies cytologiques: prophases en régression, ponts chromosomiques, stathmocinèses. Une diminution de l'activité mitotique des méristèmes prélevés est révélée à la numération (index mitotiques de 82,3 et 81,9 ‰ contre 102,2 et 101,9 ‰ chez les témoins) ainsi qu'une accumulation prophasique : les prophases représentant respectivement 86 et 84,7 % des cinèses numérées contre 51,7 et 53,9 % chez les lots témoins. L'interruption du traitement et le report des sujets sur le liquide de Knop dilué au demi n'empêchent pas la mort des sujets en moins de 48 heures plus tard.



A partir de 15 heures d'expérience, une mito-dépression nette du glycérol est observée : les index mitotiques sont de 43,8 et 39,4 ‰ contre 111,9 et 105,5 ‰ chez les lots témoins. Les cinèses sont bloquées au stade prophasique qui représente 84,7 % des mitoses chez le premier méristème et 93,7 % chez le second contre 54,7 et 52 % chez les témoins. Nous notons, en outre, quelques chromosomes contractés, de rares stathmocinèses et des altérations de la membrane nucléaire.



GRAPHIQUE 26 : GLYCÉROL 10%g. 15 HEURES.

Un traitement de 24 heures provoque une forte mito-dépression : ce qui nous oblige à recourir à une numération totale ; quelques prophases en régression sont observées encore.

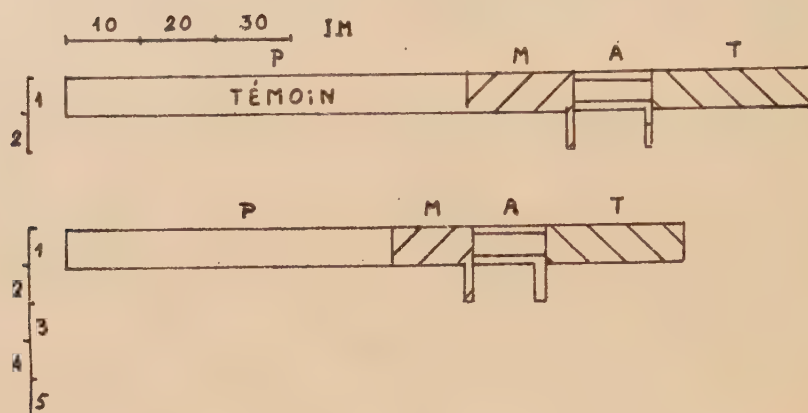
Nombre total de cinèses	Méristème I		Méristème II	
	270	%	86	%
Prophases	208	77,04	76	88,35
Métaphases	27	10	3	3,50
Anaphases	23	8,52	3	3,50
Télophases	12	4,44	4	4,65
Cellules binucléées	2	-	-	-

De très rares mitoses subsistent encore après 48 heures de traitement mais, déjà apparaît un léger début de pycnose des noyaux quiescents. La mort survient peu de temps après.

b) Concentration de 5 g %

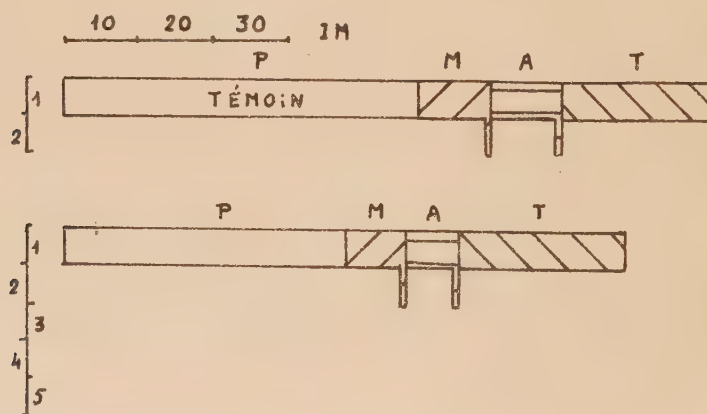
Un traitement de 24 et 48 heures laisse l'activité mitotique normale et ne provoque ni anomalie cytologique ni disproportion des divers stades de la cinèse. Cependant à la numération nous notons déjà un léger abaissement de l'index mitotique à partir de 48 heures

d'expérience : en effet, les index mitotiques sont de 81,8 et 80,5 ‰ contre 99,2 et 98,8 ‰ chez les témoins.

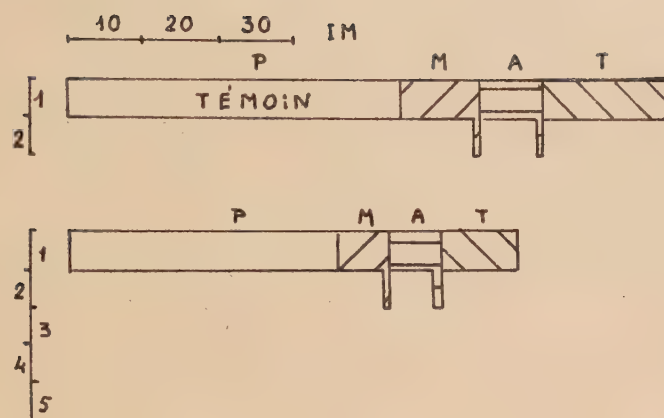


GRAPHIQUE 27 : GLYCÉROL 5%. 2 JOURS.

Les méristèmes des racines traitées pendant 3, 4 et 5 jours nous montrent à l'examen microscopique un aspect cytologique normal et des mitoses encore nombreuses. Le ralentissement du rythme de l'entrée en cinèse par le glycérol est encore faible quoique progressif : les index mitotiques sont de 74,1 et 71,4 ‰ contre 89,7 et 86 ‰ chez les lots témoins au bout de 4 jours, et index mitotiques de 59,1 et 58,7 ‰ contre 83,2 et 79,9 ‰ le 5ème jour.



GRAPHIQUE 28 : GLYCÉROL 5%. 4 JOURS.



GRAPHIQUE 29 : GLYCÉROL 5%. 5 JOURS.

A partir de ce moment, l'intoxication s'accroît rapidement. Les mitoses disparaissent totalement des méristèmes prélevés au bout de 7 jours d'expérience. En aucun cas, nous n'avons observé ici de figures cytologiques anormales.

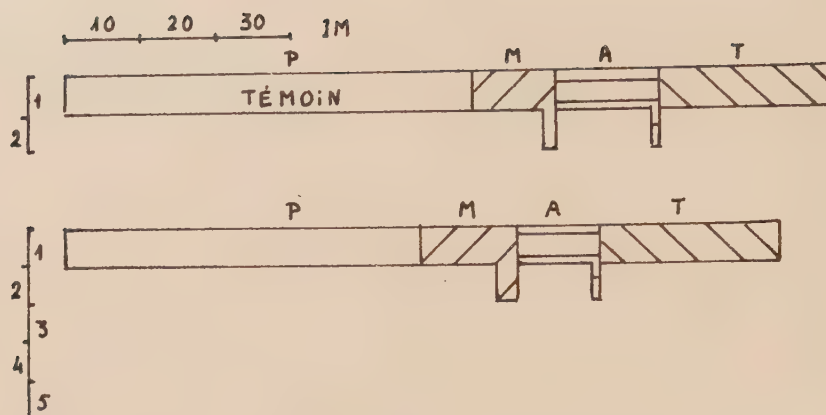
La croissance des racines traitées n'est pas perturbée durant les premiers jours, mais à partir du 3^{ème} jour l'allongement est ralenti d'une manière sensible et progressive pour être négligeable au 7^{ème} jour (moyenne de 5,1 mm contre 5,9 mm chez les lots témoins le 3^{ème} jour, moyenne de 4,3 mm contre 5,5 mm le 4^{ème} jour, moyenne de 3,8 mm, contre 5,2 mm le 5^{ème} jour, moyenne de 3,1 mm contre 5 mm le 6^{ème} jour et moyenne de 0,6 mm contre 4,9 le 7^{ème} jour).

c) Concentrations de 2,5 g % et de 1 g %

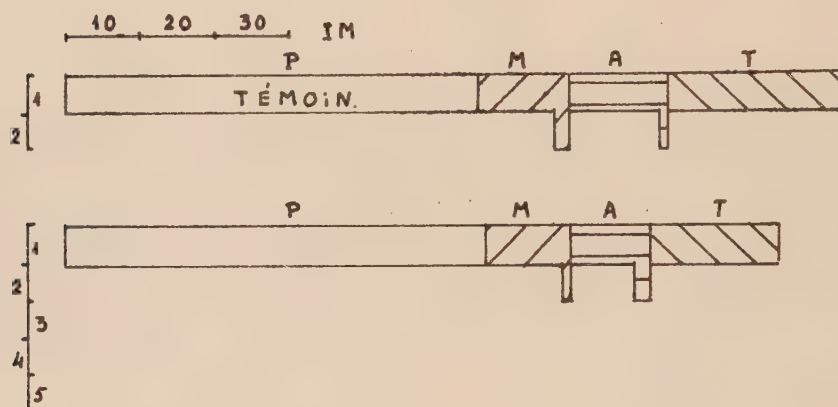
La concentration de 2,5 gr % n'a que peu d'influence sur l'activité mitotique et sur la croissance des racines d'Ail.

Les examens des prélèvements échelonnés de 1 à 7 jours nous montrent un aspect cytologique normal et des numérations ne nous révèlent un très léger ralentissement de l'activité mitotique qu'à partir du 5^{ème} jour. En effet, les index mitotiques sont de 94,4 et 93 %, contre 102,7 et 100,5 % chez les témoins après 48 heures d'expérience, de 94,2 et 92,3 % contre 105,2 et 103,7% le 4^{ème} jour et enfin de 74,1 et 72,6 % contre 83,2 et 89,9 % le 5^{ème} jour.

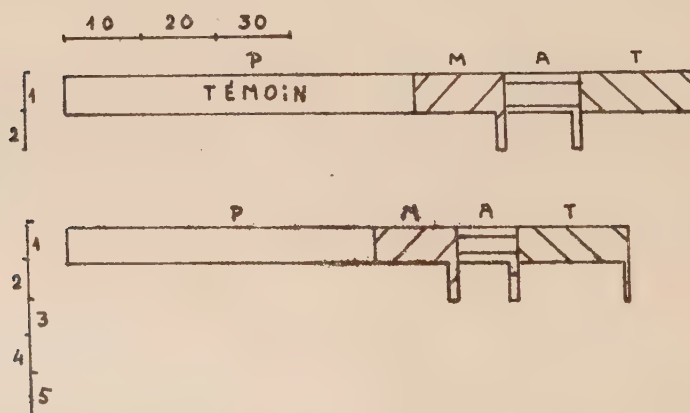
./...



GRAPHIQUE 30 : GLYCÉROL 2,5%g. 48 HEURES.



GRAPHIQUE 31 : GLYCÉROL 2,5%g. 4 JOURS.



GRAPHIQUE 32 : GLYCÉROL 2,5%g. 5 JOURS.

L'allongement des racines est légèrement inhibé au bout de 4 jours de traitement : moyenne de 5,8 mm contre 6,5 mm chez les témoins le 4ème jour, moyenne de 4,9 mm contre 6,2 mm le 5ème jour, moyenne de 4,5 mm contre 6 mm le 6ème jour et moyenne de 4,2 mm contre 5,8 mm le 7ème jour.

Quant à la concentration de 1 g %, elle est pratiquement inactive pour les méristèmes d'Ail soumis à un traitement de longue durée. En effet, l'activité mitotique des méristèmes prélevés pendant 7 jours se montre sensiblement égal à celle des témoins : index mitotiques de 97 et 95 % contre 99,2 et 98,8 % le 2ème jour, index mitotiques de 77,7 et 75 % contre 83,2 et 79,9 % le 5ème jour.

La croissance des racines traitées est sensiblement parallèle à celle des lots témoins pendant toute la durée de l'expérience.

Conclusions

D'après ces résultats, nous constatons que le glycérol est capable d'exercer une faible action mitoclasique mais dans des conditions très voisines des conditions léthales (concentration de 10 g %), dans lesquelles l'action mito-dépressive est déjà intense.

Les concentrations de 5 et de 2,5 g % de glycérol ont une influence tant sur le rythme de l'entrée en cinèse que sur la croissance des racines. Si l'action mito-dépressive de la concentration de 5 g % se manifeste déjà à partir de 48 heures, elle s'accroît faiblement mais progressivement pour être totale au bout de 7 jours de traitement ; l'action mito-dépressive de la concentration de 2,5 g % est tardive et faible (à partir du 4ème jour d'expérience).

La concentration de 1 g % se montre pratiquement atoxique pour les méristèmes de racines d'Ail après un traitement de 7 jours.

En aucun cas, nous n'avons observé d'anomalie cytologique aux concentrations de 1 à 5 g %.

Nous concluons donc que le glycérol peut être utilisé comme adjuvant pendant plusieurs jours à la concentration de 1 %, pendant 4 jours à la concentration de 2,5 % et pendant 48 heures à la concentration de 5 % sans craindre son action sur le rythme de l'entrée en cinèse des cellules traitées.

Chapitre IV

ETUDE DE L'ACTION des DIVERS MOUILLANTS

Introduction

Propriétés Générales des Mouillants

I - Définition - Propriétés générales

On désigne sous le terme d'agents mouillants les substances qui favorisent l'entrée en contact spontané d'un liquide aqueux avec les divers objets à mouiller (D.Dervichian et F. Lachampt (20)).

Le terme de mouillant est assez souvent utilisé comme synonyme d'émulsionnant ou de détersif ; il est évident que les corps qui ont des propriétés émulsionnantes ou moussantes, en s'adsorbant à la surface des objets, facilitent leur mouillage mais il est préférable de "réserver la dénomination de mouillants aux agents dont la présence entraîne l'immersion spontanée et rapide. (D. Dervichian et F. Lachampt (20)).

Les mouillants ont une constitution chimique extrêmement variée mais possèdent toujours, dans leur molécule, un ou, le plus souvent, plusieurs groupes hydrophiles de localisation variable (l'un au bout, l'autre ou les autres plus ou moins vers le milieu de la molécule) et un groupe hydrophobe fixés sur une ou plusieurs chaînes d'hydrocarbures de longueur variable, saturés ou non, aliphatiques ou aromatiques. Alors que chez les moussants et les émulsionnants "le groupe hydrosoluble est localisé à une des extrémités de la molécule et la partie liposoluble, relativement importante, est longue et rarement ou peu ramifiée" (D. Dervichian et F. Lachampt (20)).

Dans un système huile-eau, ces corps sont fortement adsorbés aux interfaces, et même à une très forte dilution, ils provoquent une chute de la tension superficielle de l'eau et de sa tension interfaciale avec l'huile.

Un grand nombre de travaux approfondis ont mis en évidence les diverses propriétés de ces mouillants que nous nous contenterons de résumer brièvement. Un agent mouillant se manifeste par :

- un effet mouillant qui augmente la dispersion d'un liquide sur une surface solide.
- un effet dispersant qui maintient les suspensions de particules solides au sein d'un liquide.

- un effet émulsionnant qui agit sur les gouttes d'un liquide au sein d'un autre liquide non miscible et assure la stabilité de l'ensemble.
- un effet moussant qui augmente la formation d'une phase dispersée gazeuse au sein d'un liquide.
- un effet détergent qui dissout les matières grasses fixées sur une surface quelconque. L'effet détergent peut être considéré comme la résultante des quatre effets précédents.

II - Classification

On classe habituellement les mouillants en trois catégories selon leur dissociation électrolytique et l'ionisation de leur molécule:

- mouillants à anion actif,
- mouillants à cation actif,
- mouillants non ioniques.

De nombreuses revues générales ont fourni des renseignements détaillés sur ces corps (H. Speel (87), F. Meyer (60), R. Corrado et B. Ruffo (13), Jowdy (40), etc ...), aussi nous bornerons-nous à caractériser brièvement les principaux d'entr'eux.

1^{re}) Mouillants à anion actif

Ils sont caractérisés par leur molécule ionisable se scindant en milieu aqueux en une partie colloïdale à caractère anionique, tandis que le cation se dissout dans le milieu. Le cation soluble peut-être soit un élément minéral tel que le sodium, l'ammonium, quelquefois le potassium soit un élément organique tel que la triéthanolamine.

Ils comprennent un grand nombre de produits dont les principaux sont :

1. Les huiles sulfonées, notamment les produits de sulfonation rapide de l'huile de ricin.
2. Les dérivés des alcools gras
 - sulfates d'alcools gras (alcool laurique, alcool cétylique, alcools secondaires, etc ...)
 - sulfonates d'alcools gras : Lauryl sulfonate de sodium.
 - glucosides d'alcools gras.
 - esters phosphoriques d'alcools gras.
 - borates d'alcools gras.
 - persulfates d'alcools gras.

3. Les dérivés des acides gras

- produits obtenus par sulfonation d'esters d'acides gras.
- dérivés sulfonés d'esters d'acides gras à froid moléculaire bas : aérosols.
- amides substitués d'acides gras.
- savons avec reste d'acides gras combinés.
- produits obtenus par condensation de chlorures d'acides gras avec :
 - les alcools sulfonés : Igepon A
 - les amino-acides sulfonés : Igepon T
 - les diamines aromatiques : Ultravons .

4. Les dérivés de la série aromatique.

5. Les dérivés des carbures gras.

2^e) Mouillants à cation actif

Ici, au contraire, la partie active de la molécule est le cation qui constitue le groupe lipophile alors que l'anion représente le groupe hydrophile.

Les principaux mouillants à cation actif sont :

1. Les sels d'amines grasses.
2. Les sels d'ammonium quaternaire, de phosphinium ou de sulfinium : Zephirol, Zephiran, Cethoxonium , Cetavlon, ...
3. Les uréthanes.
4. Les amides d'acides de diamines et d'acides gras.
5. Les alcoylpyridines composés.

3^e) Mouillants non ioniques

Les propriétés de ces corps doivent être rapportées à l'ensemble de leur molécule. Ce sont :

1. Les esters des polyalcools.
2. Les esters d'anhydropolyalcools : Spans, Tweens.

3. Les esters de polyoxyéthylène.

4. Les esters d'alkylphénol polyoxyéthylène : Igepal C.20 Triton A.20.

II - Introduction générale à l'étude des mouillants.

1^{re} Solubilisation

Il n'est pas dans nos intentions de faire une étude détaillée sur la solubilisation, mais il nous paraît nécessaire de présenter un bref résumé des travaux de certains auteurs.

Mac Bain (54-55) a défini le terme de solubilisation comme le passage spontané, à l'état de solution stable thermodynamiquement, de molécules d'une substance insoluble dans l'eau dans une solution aqueuse de savon ou de détergent. La formation d'un tel système implique un abaissement de son énergie libre, preuve de sa stabilité thermodynamique. La solubilisation implique aussi la diffusion des molécules dissoutes dans les micelles de savon.

H.B. Klevens (44) explique la solubilisation par un des mécanismes suivants : adsorption à la surface de la micelle de savon : incorporation dans le centre hydrocarboné de la micelle de savon; fixation au niveau de la couche palissadique de la micelle de savon.

Le phénomène de solubilisation est dû à une particularité de la constitution interne des solutions de sels à chaînes paraffiniques, au-dessus d'une certaine concentration nommée concentration critique pour la formation de micelles (C.C.M.). Au-dessus de la C.C.M. il y a formation de micelles ioniques, à l'intérieur desquelles sont rassemblées les longues chaînes hydrocarbonées avec les extrémités de leurs groupes hydrosolubles dirigées vers l'eau et recouvrant, dans la mesure où leur nombre le permet, l'intérieur hydrocarboné de la micelle. La structure des micelles ioniques donne encore lieu à discussion ; pour certains auteurs, elles seraient sphériques, pour d'autres cylindriques, pour d'autres encore lamellaires. Dans les micelles sphériques ou cylindriques, les chaînes hydrocarbonées seraient ramassées à l'intérieur, de façon irrégulière sans doute, tous les groupes solubles restant à la surface. Selon la théorie lamellaire, il y aurait dans la micelle deux couches de grande surface, chacune d'épaisseur monomoléculaire, les molécules de chaque couche ayant des directions opposées, si bien que la partie hydrocarbure se trouve tout au centre de la micelle, les deux faces opposées contenant tous les groupes hydrophiles. "Il semble qu'il y ait plus de probabilité pour les formes sphérique ou cylindrique que pour la forme lamellaire. D'autre part, indépendamment de leur forme, il y a sans doute pour les micelles deux façons de dissoudre les corps insolubles dans l'eau : les substances non polaires se dissolvent dans la partie hydrocarbure intérieure ; les molécules de structure hydrocarbure prépondérante avec un groupement polaire et hydrophile vers l'extrémité de la chaîne, s'orientent probablement avec leur groupe polaire vers les groupes polaires de la surface de la micelle, tandis que la partie hydrocarbure est ensevelie dans les éléments hydrocarbure qui constituent le centre de la micelle". (Adam N.K et Stevenson D.G. (1)).

Il ressort de nos consultations bibliographiques (Mac Bain (64-65), Niven (67), Adam et Stevenson (1), Allawala et Riegelman (3), Dervichian et Lachamp (20), Neuzil (66), etc) que la solubilisation des substances par les divers mouillants revêt dans tous les cas les

mêmes aspects. Le taux minimum d'une substance, qui peut-être solubilisée dans une solution d'un agent mouillant, dépend de la nature de l'agent mouillant, de la nature de la substance, de la concentration ionique du milieu, de la température, de la présence des non électrolytes, de la concentration de l'agent mouillant. La solubilisation des substances apolaires est généralement difficile, surtout les carbures aliphatiques. La présence d'un groupement hydrophile dans la substance insoluble permet son orientation à l'intérieur de la micelle de l'agent actif qui devient ainsi une micelle mixte et facilite la solubilisation. Dans une série homologue une substance est d'autant plus aisément solubilisée que son poids moléculaire est plus faible.

Allawala et Riegelman (3) insistent sur "les différences entre la solubilisation par les agents tensio-actifs et l'augmentation de solubilité provoquée par l'addition d'un solvant miscible. Par exemple, de hautes concentrations d'un solvant miscible tel que l'alcool sont nécessaires pour rendre la solubilité de l'Iode appréciable; au contraire, la solubilisation par les agents tensio-actifs est significative même en solution très diluées et c'est grâce à cela que les agents tensio-actifs offrent un net avantage dans les formules".

Il résulte de cette constatation que la solubilisation d'une substance dans une solution de mouillant et dans un solvant miscible, peut présenter des différences quant à la pénétration à travers la cellule et l'activité pharmaco-dynamique de la substance étudiée. Nous avons à tenir compte de cette notion pour l'interprétation de certains de nos résultats expérimentaux.

22) Toxicité des mouillants

Les mouillants présentant de multiples propriétés biologiques, il est nécessaire de savoir si les possibilités de leur emploi ne sont pas limitées par leur toxicité éventuelle.

De nombreuses recherches ont été effectuées à ce sujet sur les microorganismes, les cellules végétales, les cultures de tissus animaux et les organismes entiers (Crustacées, Batraciens, Mammifères, etc ...) . Ainsi G.W. Kidder, Virginia C. Dewey et H.R. Heinrich (42) en 1954, utilisaient pour leurs travaux le *Tetrahymena pyriformis*, V. Engler (27) en 1950 le Blé, l'*Elodea* et le Haricot, E. Neuzil (66) en 1952 les graines de Pin maritime et de Haricot, A. Mirimanoff (61) en 1953 le *Spirogyra* et l'*Elodea*, A. Mirimanoff et A. Audrey (62) en 1957 les Bactéries, l'*Aspergillus niger*, le *Spirogyra* et le *Muim undulatum*, W.J. Osterhout (70) en 1954 sur le *Spirogyra*. Alors que G. Dastugue et M. Boulonnais (15) (16) en 1953 se servaient comme matériel d'étude des larves de Batraciens (les Têtards), H. Herrmann, L.O. Lubchenko et U. Rothfelds (38) en 1953 de cultures d'embryons de Poulet, enfin E. Neuzil (66) en 1952 de Daphnies et de Rat, etc ...

D'une manière générale, les mouillants cationiques ne sont pas dépourvus de toxicité : selon A. Mirimanoff (61) une concentration de 10^{-5} de Désogène tue l'*Elodea* en 24 heures ; pour G. Dastugue et M. Boulonnais (15) les sels d'ammonium quaternaire (Biocidan, Cetavlon, Désogène) agissent encore à la dilution de 10^{-6} sur les larves d'Amphibiens. Ces mouillants cationiques sont même particulièrement toxiques pour les microorganismes et leurs propriétés bactéricides, fongicides, etc ... sont connues et mises à

profit : exemple le "Céquartyl A".

Les mouillants anioniques sont moins toxiques : A. Mirimanoff (61) a trouvé une action toxique du Laurylsulfate de Sodium en 24 heures pour le *Spirogyra* à la concentration de 10^{-5} , pour l'*Elodea* à la concentration de 10^{-3} ; G. Dastugue et M. Boulonnais (15) une action léthale du Laurylsulfonate de sodium en 55 minutes pour les Tétards à la concentration de 5.10^{-5} .

Et enfin, les mouillants non ioniques sont généralement peu toxiques et même atoxiques pour l'homme et pour les animaux, et favorisent même la croissance de certains microorganismes : stimulation de la croissance mycélienne avec le Tween 80 selon A. Mirimanoff (61), stimulation de la croissance du *Tetrahymena pyriformis* avec le Tween 80 d'après G.W. Kidder, Virginia C. Dewey et H.R. Heinrich (42).

Cette toxicité peut diminuer par association comme l'a montré E. Neuzil (66). D'après cet auteur l'addition de Tweens aux solutions aqueuses de substances actives ionisées, à des concentrations convenables, entraîne une diminution importante de la toxicité des dernières substances : cette détoxication se manifeste vis à vis de la Daphnie ; au contraire, l'injection parentérale au Rat de tels mélanges ne modifie pas la durée de la survie des animaux.

3°) Influence des mouillants sur certaines propriétés pharmacodynamiques

Nous devons considérer maintenant un dernier point dans cette étude générale : les mouillants, lorsqu'ils sont utilisés à des concentrations non toxiques, ont-ils une influence quantitative sur diverses actions pharmacodynamiques en favorisant, par exemple, la pénétration de certains corps ou bien même sont-ils capables de modifier la nature de l'action exercée ?

R. Charonnat et P. Lechat (10) en 1954, étudiant l'action anesthésique locale, ont trouvé que seuls les mouillants cationiques (Biocidan, Cetavlon, Bradosol, Désogène) augmentent l'action pharmacodynamique : une solution de chlorhydrate de procaïne à 5 %, inactive par elle-même, acquiert des propriétés anesthésiques modestes mais évidentes en présence de ces mouillants cationiques à la concentration de 10^{-3} (expérience sur la corne de Lapin).

G. Dastugue et M. Boulonnais (16) en 1953, étudiant l'activité narcotique ont conclu : " De façon générale, plus le narcotique est dilué, plus l'accélération de son effet par le mouillant est grande. Si on pousse cela à la limite, on trouve une dilution pour laquelle l'hypnotique ne donne rien par lui-même et où l'action narcotique se trouve révélée par le Tween 80".

D'autre part, A. Quevauviller et O.M. Blanpin (75) en 1954, ont trouvé que l'action narcotique de surface du chlorhydrate de Cocaïne est inhibée par certains mouillants non ioniques (les Tweens).

O.M. Blanpin (7) en 1955 a conclu que l'action anesthésique locale de surface exercée par le chlorhydrate de Cocaïne ou Procaïne est augmentée par la présence des mouillants anioniques et cationiques ; par contre, cette action est inhibée par les mouillants

non ioniques (les Tweens).

D'après A. Cier, B. Drevon et M. Faure (11) en 1957 le Laurylsulfate de sodium et les sels d'ammonium quaternaire, au voisinage de pH # 7, favorisent la pénétration du sulfacétamide et du Néo-synéphrine à travers la cornée, alors que les Tweens 20 et 80 ont une action nulle ou même inhibitrice.

En conclusion, d'après les travaux que nous venons de citer, il semble que la présence d'un mouillant soit capable d'agir sur l'intensité d'une action pharmacodynamique (en la renforçant ou en la diminuant selon les cas) mais non d'en modifier la nature.

Nous allons maintenant envisager successivement l'action exercée, sur la cellule végétale, par un corps appartenant à chacune des trois catégories de mouillants dont nous avons parlé :

- catégorie des mouillants non ioniques : Tween 80
- catégorie des mouillants anioniques : Laurylsulfonate de Sodium
- catégorie des mouillants cationiques : Céquartyl "A".

A - ACTION d'un MOUILLANT NON IONIQUE : le TWEEN 80 -

I - Données bibliographiques

Aux Etats Unis, on a donné le nom de Spans et de Tweens aux principaux dérivés du sorbitol : les Spans sont les esters d'acides gras (laurique, palmitique, stéarique, oléique ...) et de sorbitan ; le sorbitan étant l'anhydride de l'acide polyhydrique de sorbitol. Les Tweens dérivent des Spans par addition sur leurs oxhydriles libres de chaînes polyoxyéthyléniques résultant de la condensation de molécules d'éthylène-glycol ; la longueur de ces chaînes conditionne les propriétés physico-chimiques et les emplois des divers Tweens.

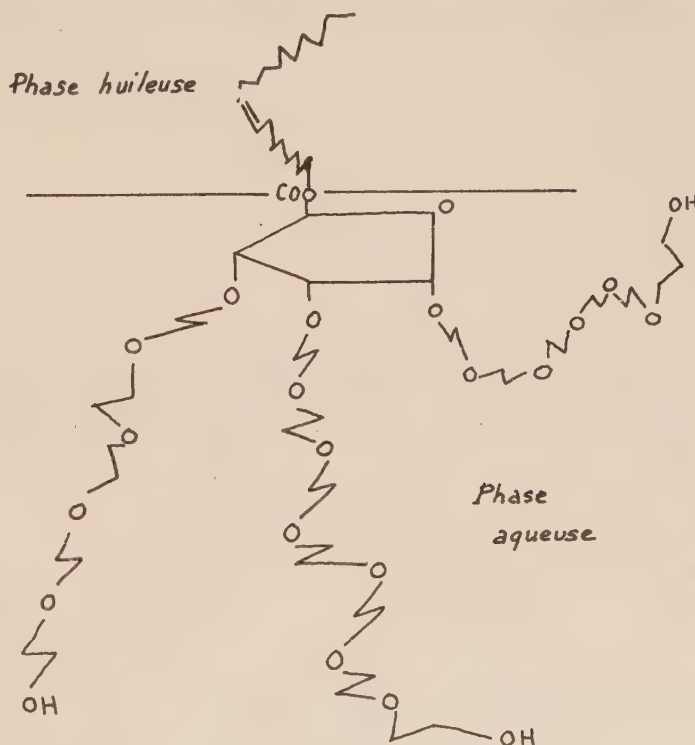
Les Tweens ne sont pas des corps chimiquement purs ; en effet, ceci est dû à ce que le procédé de leur fabrication n'a pas la rigueur d'une synthèse organique et que, dans le procédé de leur estérification, le rapport quantitatif entre acide gras, alcool et polyoxyéthylène ne répond pas à une entité chimique définie mais à des proportions statistiques (L. Wiggins (91)).

Le Tween 80, polyoxyalkylène éther monocoléate de sorbitan, appartient à la catégorie des mouillants non ioniques. Il est inscrit au Codex américain sous le nom de "Polysorbate 80".

Sa formule est :

Le Tween 80 a fait l'objet d'un certain nombre de travaux tant sur les cellules d'origine animale que sur celles d'origine végétale. Les divers auteurs ont étudié soit l'action toxique du Tween 80 seul soit l'action pharmacodynamique de ce corps dans une association avec d'autres substances médicamenteuses.

G. Dastugue et M. Boulonnais (15-16), en 1953, ont utilisé comme sujet d'expérience les Têtards pour étudier l'action toxique du Tween 80 (ainsi que celle de divers mouillants anioniques et cationiques). H. Hermann, L.O. Lubchenco et U. Rothfels (38), en 1953, ont comparé la toxicité du Tween 80 et du Triton X.100 sur l'embryon de Poulet.



Tween 80

Schéma emprunté à ATLAS POWDER COMPANY

Quevauviller et O.M. Blanpin (75) en 1954, O.M. Blanpin (7), en 1955, ont signalé l'inhibition de l'action anesthésique de surface du chlorhydrate de cocaïne par les mouillants non ioniques : les Tweens. R. Charonnat et P. Lechat (10), en 1954, ont conclu à l'inactivité des Tweens dans une association avec le Procaïnamide, tandis qu'ils ont obtenu des résultats très différents en associant ce même corps à divers mouillants cationiques. A. Cier, B. Drevon et M. Faure (11), en 1957, ont trouvé que les Tweens 20 et 80 ne favorisent pas, ou même sont capables de freiner la pénétration des médicaments au niveau de la cornée. A. Neuzil (66) en 1952, étudiant l'action des associations moléculaires du Tween 80 avec des mouillants anioniques et cationiques, a constaté une diminution de la toxicité de tels mélanges ; mais, par contre, l'injection intrapéritonéale de ces solutions à des rates ne prolonge pas leur durée de survie.

V. Engler (27), en 1950, a travaillé sur les cellules d'*Elodea* et sur les graines de Haricots ; A. Neuzil (66) en 1952, sur les graines de Pin maritime et de Haricots ; A. Mirimanoff (61), en 1953, sur l'*Elodea* ; G.W. Kidder, V.C. Dewey et H.R. Heinrich (42), en 1954, sur le *Tetrahymena pyriformis*.

Les résultats de tous ces auteurs concordent pour affirmer une très faible toxicité du Tween 80. En effet, selon G. Dastugue et M. Boulonnais, à la concentration de 1/1000, le Tween 80 n'agit pratiquement pas sur les Têtards, alors qu'à la concentration de 1/10, il ne provoque leur mort qu'au bout de 180 minutes. Pour H. Hermann, L.O. Lubchenco et U. Rothfels, le Tween 80 se montre 20 fois moins toxique que le Triton X.100 sur l'embryon de Poulet (2 mgr par oeuf contre 0,1 mgr par oeuf). V. Engler trouvait qu'à la concentration de 1/1.000 le Tween 80 est sans action sur les cellules d'*Elodea* ainsi que celle de 3/1000 sur les Haricots. Selon E. Neuzil, la germination des graines de Pin maritime est entravée à partir de la concentration de 2,5 % (le nombre de graines germées correspond alors à 13 % de la valeur des témoins) et celle des Haricots à partir de 1/1000 à 1/100 ; les concentrations de 10 % de Tween 80 exercent la même action inhibitrice sur les deux espèces expérimentées. Pour A. Mirimanoff, ce corps est atoxique : à la concentration de 1 %, il n'a aucune influence ni sur l'*Elodea* ni sur la germination d'une racine, par contre il stimule la croissance des champignons. G.W. Kidder, V.C. Dewey et H.R. Heinrich ont trouvé une action stimulante du Tween 80 sur le *Tetrahymena pyriformis* à la concentration de 1 %.

À la lumière de ces données, nous avons entrepris nos expériences avec des concentrations variées pour rechercher une action stimulante éventuelle du Tween 80 sur la germination et sur la croissance des grains de Blé, sur la croissance des plantules de Pois, et enfin nous avons mis en oeuvre des concentrations plus élevées en vue d'une étude cytologique de l'action exercée sur l'Ail.

II - Expériences personnelles

1°) Expériences sur le *Triticum vulgare* L.

Des concentrations de 10^{-2} g, 5.10^{-3} g, 2.10^{-3} g et 10^{-3} g de Tween ont été utilisées pour étudier l'influence de ce corps sur la germination et sur la croissance des tigelles et des radicules des grains de Blé.

a) Germination

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Après 48 heures de traitement

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	Grains commençant à germer	Grains non germés
Témoins	90	7	3
10^{-2} g	75	23	2
$5 \cdot 10^{-3}$ "	77	17	6
$2 \cdot 10^{-3}$ "	82	13	5
10^{-3} "	83	14	3

b) Croissance

Les mesures des longueurs de tigelles et de racicelles des grains de Blé germés de l'expérience précédente nous fournit les nombres suivants :

Après 48 heures de traitement

Moyenne en mm des	Tigelles	Radicelles
Témoins	3,7	11,4
10^{-2} g	1,8	4,4
$5 \cdot 10^{-3}$ "	2,1	4,9
$2 \cdot 10^{-3}$ "	2,9	8,8
10^{-3} "	3,4	10,8

Ainsi, nous constatons que le Tween 80 est inhibiteur de la germination des grains de Blé aux concentrations de 10^{-2} g et de $5 \cdot 10^{-3}$ g. Quant à la croissance des tigelles et des racicelles de grains germés, l'action inhibitrice est plus prononcée et s'observe jusqu'à la concentration de $2 \cdot 10^{-3}$ g. Le Tween se montre inactif à la concentration de 10^{-3} g.

2^e) Expériences sur le Pisum sativum L.

Nous avons utilisé une vaste gamme de concentrations allant de 10^{-2} à 10^{-9} gr et nous avons noté la moyenne des allongements des racines des plantules dont les nombres sont résumés dans ce tableau :

Moyenne des allongements en mm en	1jour	2jours	3jours	4jours	5jours	6jours
Témoins	14,2		23,6	10,9	11,4	13,5
10^{-2} gr	10,9		16,8	4,6	4,3	3,6
$2 \cdot 10^{-3}$ gr	12,8		16,9	6,1	4,5	3,6
10^{-3} gr	14,4		21,2	8,7	6,6	4,6
$2 \cdot 10^{-4}$ gr	14,1		21	9,7	9,6	8,7
Témoins	11,6	14,2		24,7	12	11
$5 \cdot 10^{-2}$ gr	10,9	11,7		17,1	2,3	2,3
$5 \cdot 10^{-3}$ gr	11,7	13,3		19	4,9	3,5
10^{-4} gr	11,3	14		22,3	11,5	10,6
10^{-5} gr	11,7	14,4		23,3	11,7	10,8
Témoins	11,2	13,5	16,4	15,4	12	
10^{-7} gr	10,7	12,7	16	14,4	10,3	
10^{-8} gr	11	13	16,7	15,2	12	
10^{-9} gr	11,1	13,2	16,5	15,3	12,1	

En conclusion, nous remarquons qu'aucune action stimulante de la croissance des racines ne se manifeste aux concentrations mises en oeuvre, et que par contre une action inhibitrice s'est révélée à la concentration de 10^{-3} g en 4 jours et d'une façon plus nette encore à la concentration de $2 \cdot 10^{-3}$ g en 3 jours.

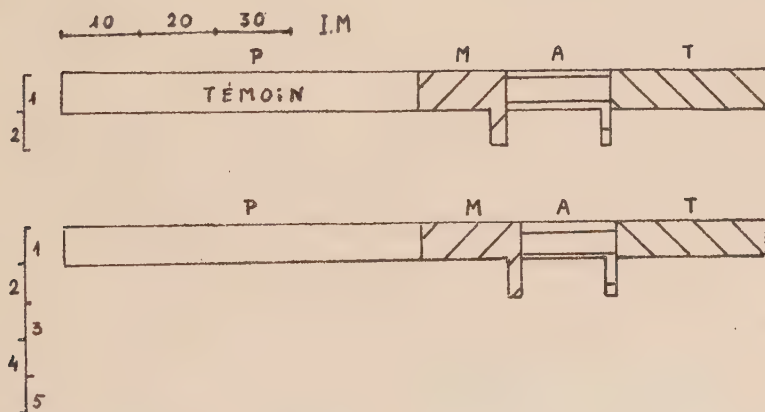
3^e) Expériences sur l'*Allium sativum* L.

Après les expériences préliminaires sur le Blé et sur le Pois nous avons effectué une étude cytologique détaillée en utilisant l'*Allium sativum* L. Nous avons employé des fortes concentrations de 1/10, 1/20, 1/100 et 1/1000 g car aux concentrations inférieures aucune action stimulante du Tween 80 n'a été observée.

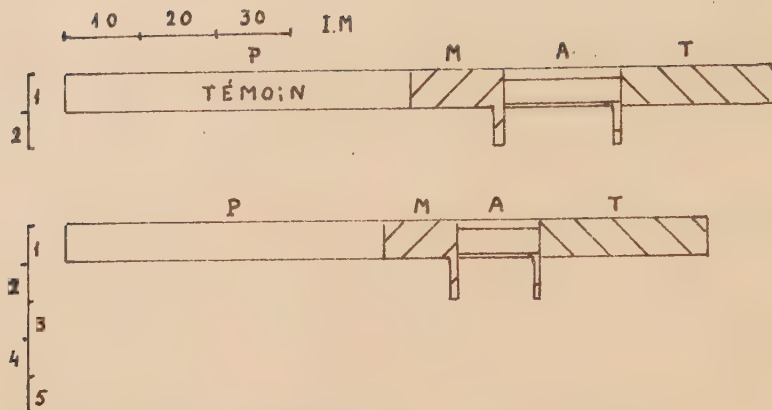
a) Concentration de 1/10 g

Malgré la forte concentration mise en oeuvre le Tween 80 manifeste une toxicité nulle vis à vis des méristèmes de racines d'Ail.

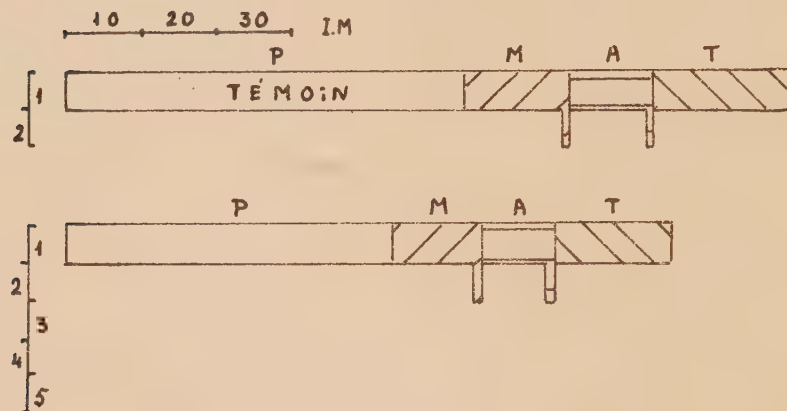
Un traitement de longue durée ne provoque aucune anomalie cytologique et les prélèvements du premier au septième jour d'expérience nous révèlent une activité mitotique sensiblement normale. En effet, à partir de 48 heures, les index mitotiques sont de 93 et 88,8 % contre 94,6 et 94 % chez les témoins, et de 89 et 84,3 % contre 97 et 94,3 % au bout de 4 jours. Ce n'est qu'à partir de 7 jours de traitement qu'on observe qu'un léger fléchissement des index mitotiques des sujets expérimentaux = index de 83,4 et 80,5 % contre 97 et 96,7 % chez les lots témoins. En aucun cas, on n'observe de modifications dans les pourcentages des divers stades de la mitose sous l'effet du traitement.



GRAPHIQUE 33 : TWEEN 80 1/10g. 48 HEURES.



GRAPHIQUE 34 : TWEEN 80 1/10g. 4 JOURS



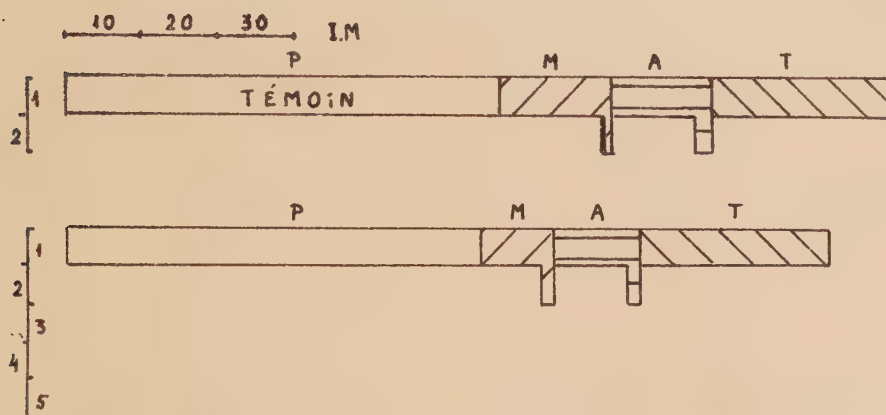
GRAPHIQUE 35 : TWEEN 80 1/10g. 7 JOURS

La croissance des racines traitées, normale durant les premières 48 heures, est ralentie à partir du 3^{ème} jour (moyenne de 5,6 mm contre 6,5 mm chez les témoins le 3^{ème} jour ; moyenne de 5,1 mm contre 6,7 mm le 4^{ème} jour ; moyenne de 4,5 mm contre 6,2 mm le 5^{ème} jour et moyenne de 3,3 mm contre 6,2 mm le 7^{ème} jour). Il est à noter qu'à partir du 3^{ème} jour les racines qui s'accroissent moins vite que dans le lot témoin présentent un épaississement plus marqué.

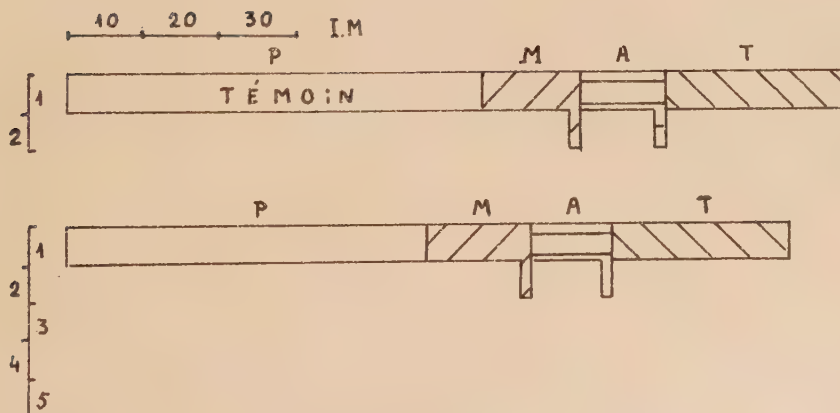
b) Concentration de 1/20 g

Le Tween 80, à cette concentration, se comporte d'une manière analogue à celle de l'expérience précédente. Les prélèvements des méristèmes soumis à un traitement prolongé nous offrent un aspect cytologique normal et des numérations nous montrent un index mitotique sensiblement égal à celui des témoins. En effet, les index mitotiques sont de

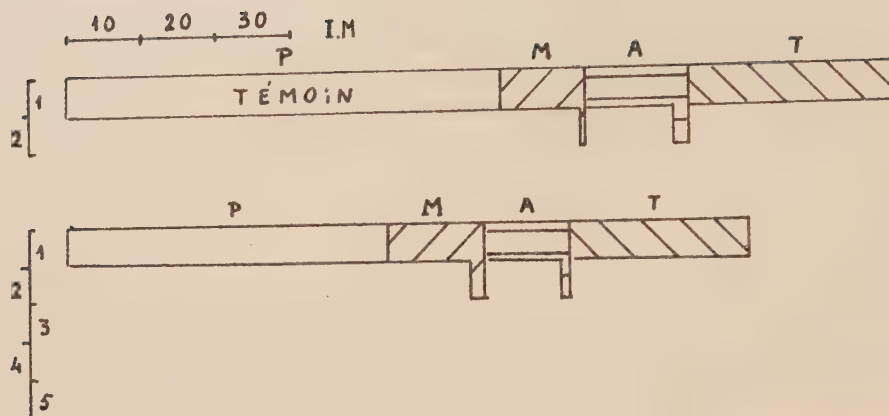
106,5 et 100,6 ‰ contre 110,3 et 108,7 ‰ après 48 heures d'expérience, et de 95,2 et 94,2 ‰ contre 106,4 et 103,5 ‰ au bout de 4 jours. Un très léger ralentissement de l'activité mitotique s'observe après quelques jours et le 7ème jour de traitement par exemple, les index mitotiques sont de 89,1 et 83,9 ‰ contre 114 et 109,5 ‰ chez les témoins.



GRAPHIQUE 36 : TWEEN 80 1/20 g. 48 HEURES



GRAPHIQUE 37 : TWEEN 80 1/20 g. 4 JOURS



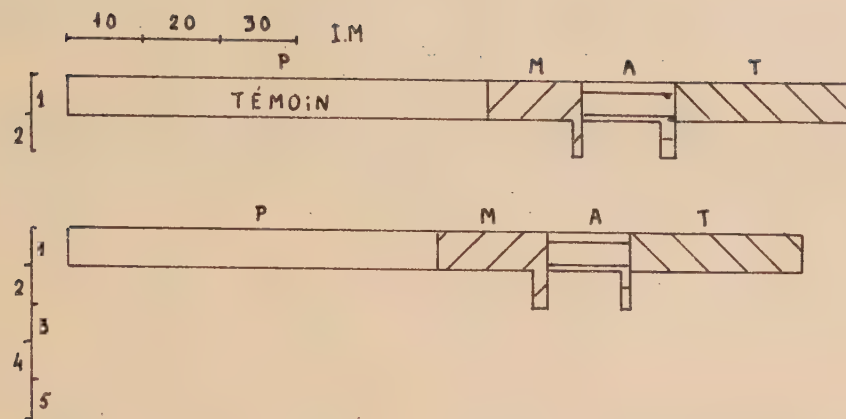
GRAPHIQUE 38 : TWEEN 80 1/20g. 7 JOURS

L'allongement des racines traitées est légèrement inhibé à partir du 4ème jour sans que leur aspect extérieur soit modifié, à part l'épaississement de celles-ci par rapport aux témoins déjà signalés avec la concentration précédente (moyenne de 5,2 mm contre 6,3 mm le 4ème jour, moyenne de 4,8 mm contre 5,9 mm le 5ème jour et moyenne de 4mm contre 6,1 mm le 7ème jour).

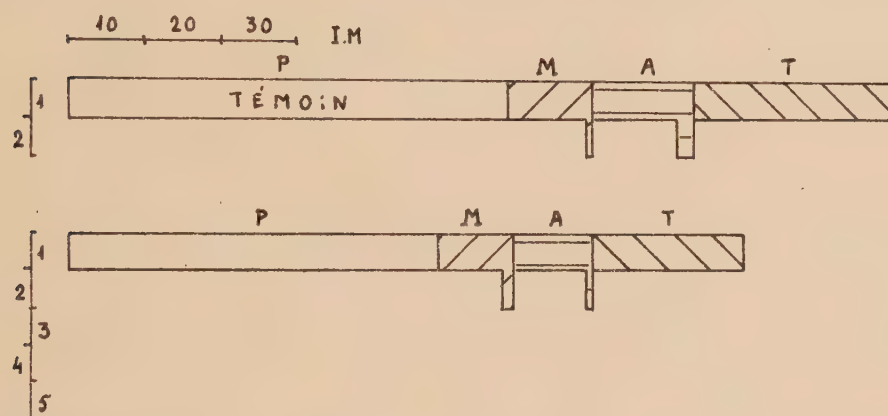
c) Concentrations de 1/100 et de 1/1000 g.

A la concentration de 1/100, le Tween 80 est nettement inactif sur les méristèmes de racines d'Ail. Les examens des prélèvements échelonnés de 1 à 7 jours nous montrent constamment un aspect cytologique normal et des numérations ne nous révèlent un léger ralentissement de l'activité mitotique qu'après 7 jours de traitement. En effet, les index mitotiques sont de 108,1 et 104,8 ‰ contre 110,3 et 108,7 ‰ après 48 heures d'expérience, et de 96,5 et 95,2 contre 116,4 et 113,5 ‰ le 4ème jour ; enfin de 88,7 et 85,7 ‰ contre 114 et 109,5 ‰ le 7ème jour.

./...



GRAPHIQUE 39 : TWEEN 80 $10^{-2}\%$ 4 JOURS



GRAPHIQUE 40 : TWEEN 80 $10^{-2}\%$ 7 JOURS

L'allongement des racines est légèrement inhibé à partir du 4ème jour (moyenne de 5,7 mm contre 6,3 mm chez les lots témoins le 4ème jour, moyenne de 5mm contre 6,2mm le 5ème jour, moyenne de 4,9 mm contre 6,1 mm le 7ème jour).

Quant à la concentration de 1/1000, elle est d'une innocuité totale pour les méristèmes de racines d'Ail soumis à un traitement prolongé. L'allongement des racines reste sensiblement égal à celui des témoins même après 7 jours d'expérience.

Conclusions

D'après ces résultats, nous constatons que le Tween est d'une toxicité pratiquement nulle pour les racines d'Ail. Si l'allongement de ces racines est ralenti après 3 ou 4 jours d'expérience aux fortes concentrations de 1/10, 1/20 et 1/100, l'aspect cytologique

des méristèmes prélevés reste toujours normal ; un faible ralentissement de l'activité mitotique est observé après plusieurs jours de traitement. En aucun cas nous n' avons observé de figures mitotiques anormales ni même de modifications .

Nous concluons donc que le Tween 80 peut-être utilisé comme adjuvant jusqu'à 1 a concentration de 1/10 pendant plusieurs jours sans craindre son action sur le rythme de l'entrée en cinèse des cellules traitées.

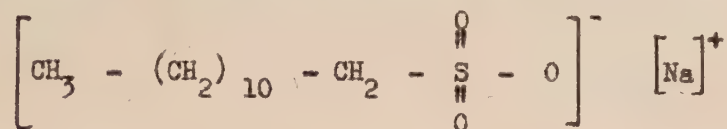
2

2 2

B - ACTION D'UN MOUILLANT A ANION ACTIF : LE LAURYSULFONATE DE SODIUM

I - Données bibliographiques

Le Laurylsulfonate de sodium, un des dérivés sulfonés de l'alcool laurique, nous a servi de type pour l'étude de l'action d'un mouillant à anion actif.



La littérature scientifique nous révèle qu'un certain nombre d'auteurs ont expérimenté le Laurylsulfonate de sodium ou un mouillant à anion actif soit sur des cellules végétales soit sur des cellules animales soit même sur des animaux entiers : V. Engler (27), G. Dastugue et M. Boulonnais (15) utilisaient le Laurylsulfonate de sodium dans leurs travaux ; A. Mirimanoff (61), A. Mirimanoff et A. Audrey (62), E. Neuzil (66), O-M. Blanpin (7), A. Cier, B. Drevon et M. Faure (11) le Laurylsulfate de sodium.

Ainsi, V. Engler (27), en 1950, a trouvé une action toxique du Laurylsulfonate de Sodium sur la cellule d'*Elodea* à la concentration de 10^{-3} ; il a également expérimenté sur les grains de Blé par deux techniques : par immersion et par contact direct. Pour l'essai par immersion, V. Engler plongeait les graines dans des solutions de mouillants à des concentrations diverses durant un temps variable (2 à 72 heures) ; il lavait les graines ainsi traitées à l'eau courante et les maintenait sur fond de coton humide à 25° pendant 6 jours : il a conclu que la concentration de 10^{-3} retarde la germination et qu'à partir de la concentration de 2.10^{-4} ce corps est sans action. Par essai de contact direct, V. Engler a obtenu les résultats suivants : la concentration de 10^{-2} , très toxique, provoque l'arrêt de la croissance des plantules au bout de 3 jours et leur mort peu de temps après ; les concentrations de 2.10^{-3} et de 10^{-3} exercent une action toxique certaine et les concentrations de 2.10^{-4} et inférieures sont inoffensives. Enfin V. Engler cultive les Haricots en cuve pendant 10 jours, les lave à l'eau tiède puis les place dans le milieu de Gericke contenant le corps à étudier : sur ce test, il confirme l'inocuité des concentrations de 2.10^{-4} et de 10^{-5} .

A. Mirimanoff et A. Audrey (62), en 1957, ont mis en évidence une sensibilité particulièrement grande des cellules de *Spirogyra* vis à vis de l'action toxique du Laurylsulfate de sodium, qui, sur ce matériel, exerce une action létale à la concentration de 10^{-5} ;

A. Neuzil (66), en 1952, a étudié à la fois l'action des mouillants non ioniques (les Tweens) utilisés seuls sur la cellule végétale et l'association des Tweens à un Laurylsulfate de Sodium sur les Daphnies et sur les Rats. L'addition des Tweens à une solution de Laurylsulfate de Sodium, à des concentrations convenables, entraîne une diminution importante de la toxicité de ce dernier corps ; cette détoxication se manifeste vis à vis de la Daphnie, au contraire, l'injection parentérale au Rat de tels

mélanges ne modifie pas la durée de la survie des animaux.

G. Dastugue et M. Boulonnais (15), en 1953, dans une étude comparée des trois catégories de mouillants ont conclu que le Laurylsulfonate de Sodium est létal pour les Tétards à la concentration de $5 \cdot 10^{-5}$ en 55 minutes, tandis que le Tween 80 les tue en 180 minutes à la concentration de $1/10$ et que les détergents à cation actif sont encore toxiques à 10^{-6} .

O.M. Blanpin (7), en 1955, a trouvé que l'action anesthésique locale de surface exercée par le chlorhydrate de cocaïne ou procaine est augmentée par l'adjonction de mouillants anioniques (Laurylsulfate de Sodium) et cationiques alors que les Tweens, au contraire, l'inhibent.

A. Cier, B. Drevon et M. Faure (11), en 1957, ont démontré que le Laurylsulfate de Sodium, au voisinage du pH 7, favorise la pénétration du Sulfacétamide et du Néosynéphrine à travers la cornée.

A la suite des résultats fournis par la littérature, nous utiliserons donc une gamme de concentrations étendue, allant de 10^{-3} à 10^{-7} , pour nos expériences sur la croissance et sur la germination des grains de Blé, sur la croissance des racines des plantules de Pois, et pour une étude cytologique sur les racines d'Ail.

II - Expériences personnelles

1°) Expérience sur le Triticum vulgare L.

Des concentrations allant de 10^{-4} à 10^{-7} g ont été mises en oeuvre pour étudier l'influence du Laurylsulfonate de Sodium sur la germination et sur la croissance des tigelles et des radiculles des grains de Blé traités.

a) Germination

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Après 48 heures de traitement :

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	Grains commençant à germer	Grains non germés
Témoins	97	1	2
10^{-4} g	69	26	5
10^{-5} g	75	24	1
10^{-6} g	82	18	-
10^{-7} g	85	14	1

b) Croissance

Les mesures des longueurs des tigelles et des racicelles des grains de Blé germés de l'expérience précédente nous fournissent ces nombres.

Après 48 heures de traitement

Moyenne en mm des	Tigelles	Radicelles
Témoins	2,5	6,1
10^{-4} g	2,3	6,8
10^{-5} g	2,2	6,1
10^{-6} g	2,3	6,4
10^{-7} g	2,5	6,5

D'après ces expériences, nous constatons que le Laurylsulfonate de Sodium est nettement inhibiteur de la germination des grains de blé aux concentrations mises en oeuvre. Quant à la croissance des tigelles et des radicelles, aucune action stimulante ou inhibitrice n'est observée.

2°) Expérience sur le Pisum sativum L.

Un certain nombre de concentrations de Laurylsulfonate de Sodium, allant de 10^{-3} à 10^{-7} ont été utilisées pour déterminer la sensibilité des plantules de Pois vis à vis de ce produit. Les nombres obtenus sont résumés dans les tableaux ci-dessous :

Moyenne des allongements en mm en	1 jour	2 jours	3 jours	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours
Témoins	10,2	10,6	10,9	10,8	10,6		15,1
10^{-3} g	1,2	0,2	0	-	-		-
$5 \cdot 10^{-4}$ g	1,7	0,7	0,2	0	-		-
10^{-4} g	8,3	6,9	3,9	2,9	1,7		1,2
$5 \cdot 10^{-5}$ g	10,6	10,7	9,2	8,9	8,1		13,2

./...

Moyenne des allongements en mm en	1jour	2jours	3jours	4jours	5jours	6jours	7jours
./ ...							
Témoins	11,7	11,3		16,7	11,5	11,5	13,2
$2 \cdot 10^{-5}$ g	12,1	11,1		16,8	9,5	8	9,6
$2 \cdot 10^{-6}$ g	12	11,2		17	11,3	11	12,8
Témoins		21,3	10,4	12,4	12	12,2	
10^{-5} g		21	9,8	11,9	9,7	9,8	
10^{-6} g		21,2	10,1	12,3	11,5	11,1	
10^{-7} g		21,1	10,6	12,5	11,6	11,5	

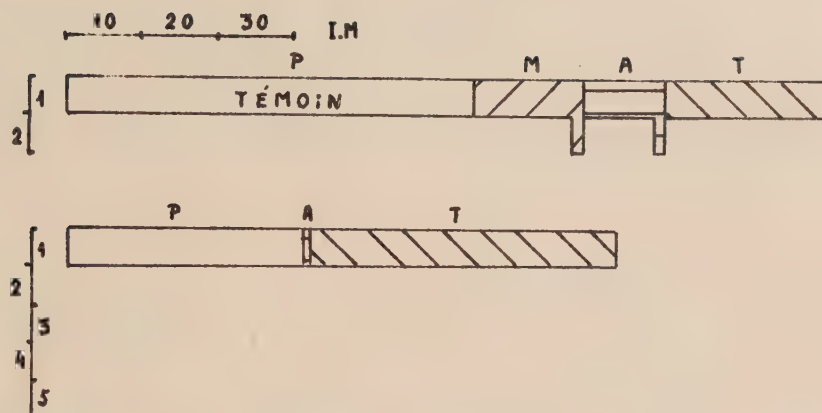
Le Laurylsulfonate de Sodium exerce donc une action inhibitrice sur la croissance des racines de Pois à la concentration de 10^{-5} au bout de 5 jours et à partir de 1 a concentration de 10^{-4} en 24 heures. Nous remarquons qu'à la concentration de $5 \cdot 10^{-4}$ la mort survient à partir du 4ème jour et qu'à la concentration de 10^{-3} , les racines traitées se fendillent en 48 heures.

32) Expériences sur l'*Allium sativum* L.

Pour une étude cytologique détaillée, nous avons employé des concentrations allant de 10^{-3} à $5 \cdot 10^{-5}$ sur les racines d'Ail.

a) Concentration de 10^{-3} g

Après 3 heures de traitement, le Laurylsulfonate exerce déjà une action mito-dépressive nette. En effet, les index mitotiques sont de 73,5 et 72,9 % contre 110,3 & 101,1 % chez les lots témoins. Nous notons une disproportion considérable des divers stades de la cinèse : les prophases sont en nombre légèrement inférieures à celles des témoins; les méta et anaphases sont peu nombreuses (respectivement 0,33 et 2 % des mitoses pour le 1er méristème, 0 et 1,33 % pour le 2ème) ; par contre les télophases sont en augmentation considérable (53,7 et 55,3 % des cinèses contre 27,7 et 27 % chez les témoins). Ces résultats indiquent, d'une part, une diminution de l'entrée des cellules en mitose et, d'autre part, un blocage au stade télophasique. Aucune figure cytologique anormale n'est observée, nous signalons cependant la présence, par place, de chromatolyse.



GRAPHIQUE 41 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 10^{-3} 3 HEURES

L'action du Laurylsulfonate de Sodium s'accroît au bout de 6 heures de traitement. Des numérations totales des méristèmes prélevés sont alors nécessaires : les stades méta et anaphasiques sont quasi inexistantes, les télophases sont en nombre normal, par contre une accumulation prophasique est à signaler. Le report de ces racines dans le liquide de Knop dilué au demi n'empêche pas l'intoxication d'évoluer vers la mort peu de temps après.

Nombre total de cinèses	Méristème I		Méristème II	
	156	%	263	%
Prophases	117	75	178	67,38
Métaphases	-	-	-	-
Anaphases	-	-	1	0,38
Télophases	39	25	84	31,94

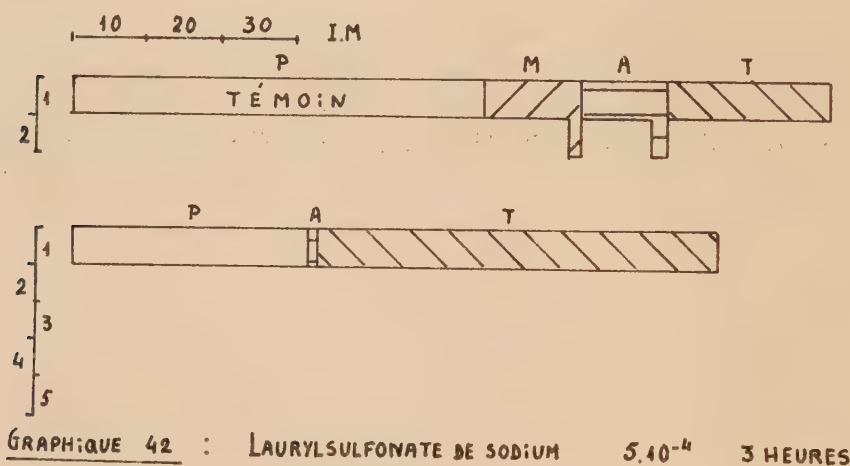
b) Concentration de 6.10^{-4} g

A cette concentration, nous notons qu'à partir de 6 heures de traitement l'action mitostatique du Laurylsulfonate de Sodium, se traduisant par un blocage des cinèses aux stades prophasique et télophasique, est observée alors que l'aspect de la majorité des cellules est normal. A partir de 24 heures, les mitoses sont devenues rares chez les méristèmes prélevés et la mort des racines survient après 48 heures d'expérience.

c) Concentration de $5.10^{-4}g$

Après 1 heure d'expérience, à la concentration de $5.10^{-4}g$, les méristèmes présentent une activité mitotique intense et l'aspect de la majorité des cellules reste normal. Des prélèvements de 4 et de 6 heures, après l'interruption du traitement et le report de ces sujets dans le liquide de Knop dilué au demi, nous montrent une mitodépression presque totale ; la reprise de l'activité mitotique ne se manifeste qu'après 16 heures. Ceci nous montre que l'intoxication quoique précoce est encore réversible.

Après 3 heures de traitement, nous notons déjà une mito-dépression : les index mitotiques des sujets en expérience sont de 85,7 et 84,4 ‰ contre 110,3 et 101,1 ‰ chez les témoins. Un déséquilibre des diverses proportions des stades de la cinèse est constaté : les prophases sont en diminution sensible (37 à 36,3 % des mitoses contre 50,7 et 49 % chez les lots témoins) ; les méta et anaphases sont quasi inexistantes (respectivement 0 et 1,33 % des cinèses dans un méristème, 0 et 0,33 % dans l'autre) ; les télophases représentent alors 63,3 et 61,7 % des mitoses contre 27,7 et 27 % chez les témoins. On retrouve ici, l'action déjà observée après un traitement de 3 heures à la concentration de 10^{-3} .

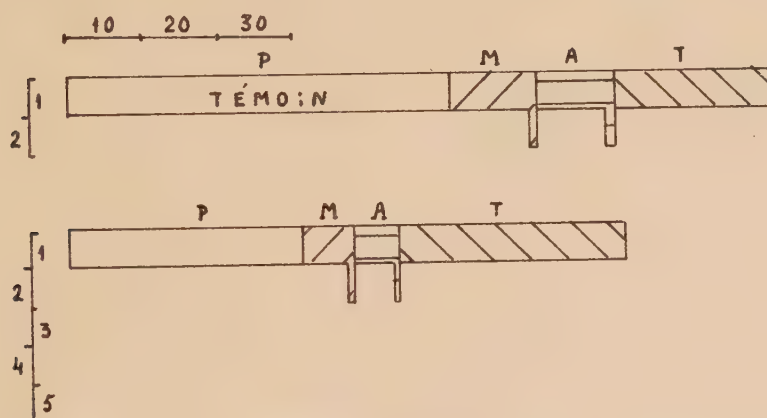


L'action mito-dépressive du Laurylsulfonate de Sodium devient de plus en plus manifeste au fur et à mesure de l'expérience. Ainsi, après un traitement de 6 heures, une baisse notable du rythme de l'entrée en cinèse est observée ainsi qu'une accumulation prophasique.

L'examen des méristèmes prélevés après 24 heures d'expérience nous révèle que les seules images mitotiques sont des prophases bloquées ; aucune mitose ne s'achève et on observe quelques zones de chromatolyse. Des numérations totales sont nécessaires et les nombres obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Nombre total de cinèses	Méristème I		Méristème II	
	98	%	154	%
Prophases	96	97,96	154	100
Métaphases	-	-	-	-
Anaphases	-	-	-	-
Télophases	2	2,04	-	-

Cependant, si nous interrompons le traitement et reportons ces racines sur le liquide de Knop dilué au demi, nous constatons que l'activité mitotique reprend assez rapidement (48 heures après). Les index mitotiques de tels méristèmes sont alors de 74,9 et 73,8 ‰ contre 103,2 et 101,6 ‰ chez les témoins. Une accumulation téléphasique est observée : 41,3 et 40,3 % des cinèses contre 29,3 et 28,3 % chez les lots témoins.



GRAPHIQUE 43 : LAURYSULFONATE DE SODIUM $5 \cdot 10^{-4}$ 24 HEURES DE CONTACT, 48 HEURES DE RETOUR.

d) Concentration de $4 \cdot 10^{-4} g$

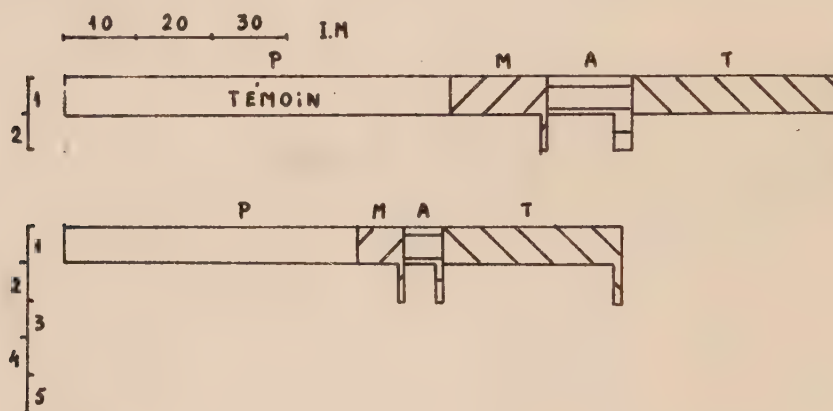
Au bout de 6 heures de traitement, les méristèmes prélevés nous montrent des mitoses nombreuses et normales ainsi qu'une certaine accumulation prophasique. Des résultats analogues sont obtenus après 24 heures d'expérience.

Une mito-dépression forte puis presque totale est observée à partir de 48 heures de traitement. Nous notons également la présence de quelques noyaux lysés dans les méristèmes prélevés. Le report des racines traitées pendant 3 jours sur le liquide de Knop dilué au demi n'empêche pas leur mort peu de temps après.

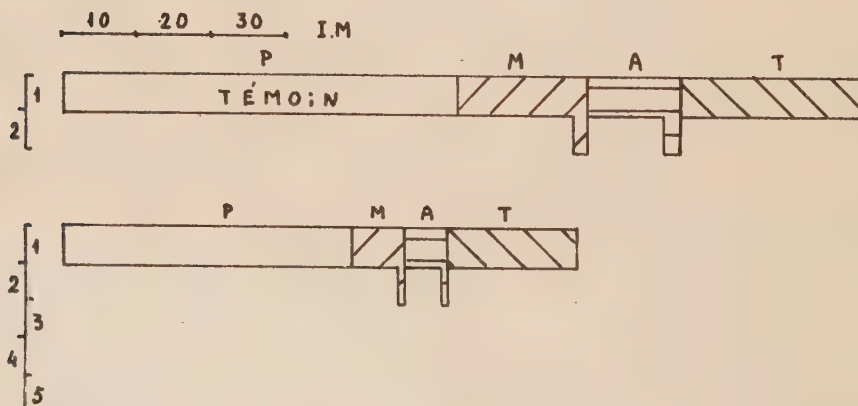
Les racines, soumises à un tel traitement, voient leur allongement fortement inhibé dès le 1^{er} jour ; elles deviennent turgescentes puis molles ensuite (moyenne de 2,1 mm contre 4,8 mm chez les témoins le 1^{er} jour, moyenne de 1,5 mm contre 4,6 mm le 2^{ème} jour et moyenne de 0,3 mm contre 4,8 mm le 3^{ème} jour).

e) Concentration de 3.10^{-4} g

Après un traitement de 6 heures et de 24 heures à cette concentration, l' aspect des méristèmes prélevés reste normal et les mitoses sont encore nombreuses. Après numération, nous constatons une action mito-dépressive du Laurylsulfonate de Sodium se traduisant par une baisse des index mitotiques chez les sujets en question. En effet, les index mitotiques sont de 77,6 et 74,7 ‰ contre 118 et 113,2 ‰ chez les témoins au bout de 6 heures d'expérience, et de 68,2 et 63,4 ‰ contre 118,2 et 116,4 ‰ après 24 heures. Les divers stades de la cinèse restent dans les proportions normales et aucune anomalie cytologique n'est à signaler.



GRAPHIQUE 44 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 3.10^{-4} 6 HEURES



GRAPHIQUE 45 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 3.10^{-4} 24 HEURES

A partir de 48 heures d'expérience, la mito-dépression devient telle qu'une numération totale des méristèmes prélevés est nécessaire. Les nombres obtenus sont rapportés dans le tableau suivant:

Nombre total de cinèses	Méristème I		Méristème II	
	158	%	295	%
Prophases	63	39,87	122	41,35
Métaphases	10	6,33	15	5,09
Anaphases	8	5,06	15	5,09
Télophases	77	48,74	143	48,47

Si l'on cesse le traitement et si l'on reporte ces sujets sur le liquide de Knop dilué au demi, une activité mitotique normale reprend 24 heures plus tard.

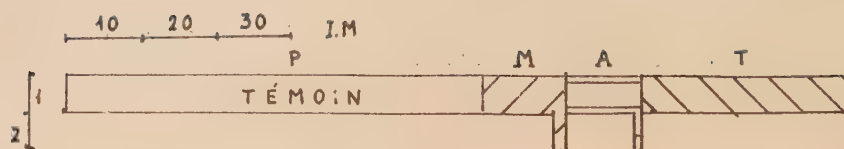
Un traitement de 3 jours entraîne la disparition presque totale des mitoses et par place on aperçoit quelques pycnoses de noyaux quiescents. Le report sur le liquide de Knop dilué au demi n'empêche pas le sujet d'évoluer vers la mort.

L'allongement des racines est nettement inhibé dès les premières heures du traitement (moyenne de 2,5 mm contre 4,2 mm chez les témoins le 1er jour, moyenne de 1,5 mm contre 5 mm le 2ème jour, moyenne de 0,6 mm contre 4,8 mm le 3ème jour). Les racines traitées deviennent vite turgescentes puis se ramollissent peu de temps après, et certaines d'entr'elles se fendillent.

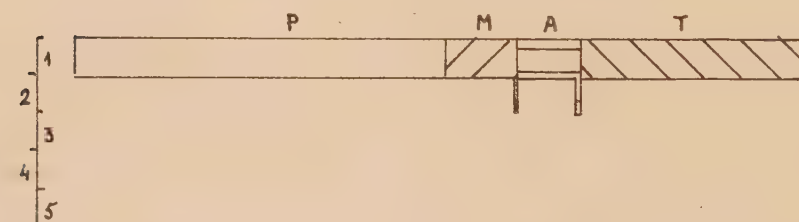
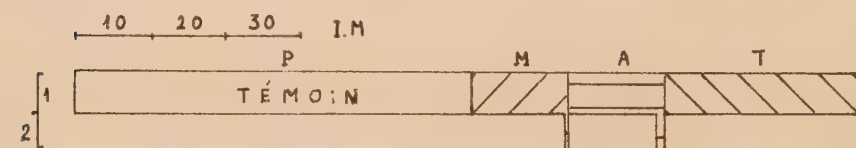
f) Concentrations de 2.10^{-4} - 10^{-4} - 5.10^{-5} g

Les concentrations de 2.10^{-4} - 10^{-4} et de 5.10^{-5} g n'ont aucune action sur l'activité des méristèmes des racines d'Ail soumis à un traitement prolongé.

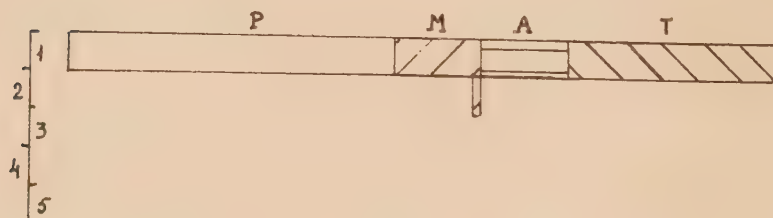
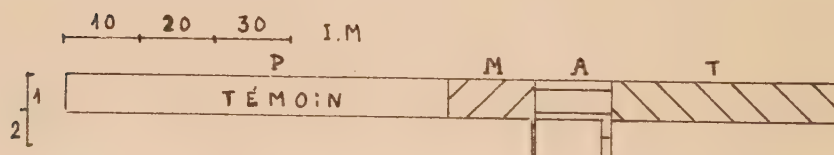
En effet des prélèvements, échelonnés du 1er au 7^e jour d'expérience, nous offrent constamment un aspect normal des cellules ; les index mitotiques restent sensiblement égaux à ceux des témoins.



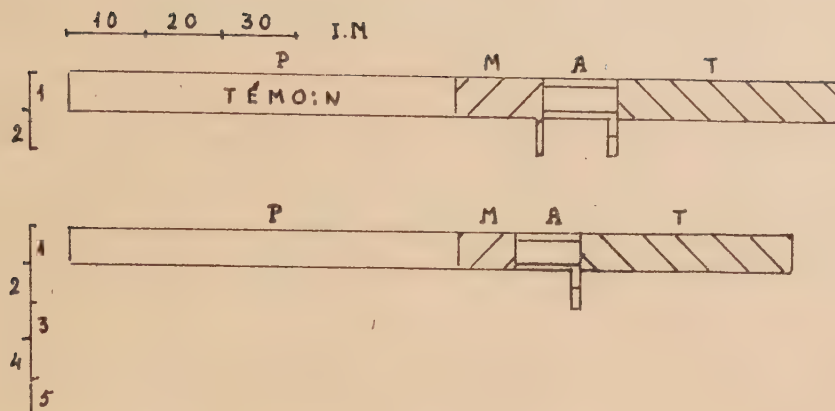
GRAPHIQUE 46 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 2.10^{-4} 4 JOURS



GRAPHIQUE 47 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 2.10^{-4} 7 JOURS



GRAPHIQUE 48 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 10^{-4} 7 JOURS



GRAPHIQUE 46 : LAURYSULFONATE DE SODIUM 5.10^{-5} 7 JOURS

L'allongement des racines soumises au traitement de ces concentrations reste sensiblement égal à celui du lot témoin.

Conclusions

Il ressort de nos travaux que le Laurylsulfonate de Sodium présente une toxicité assez grande à partir de la concentration de 3.10^{-4} g. Ce produit exerce une action mitodépressive précoce et à aucun moment de nos expériences nous n'avons observé une action mitoclasique ou chromatoclasique.

Si l'intoxication est précoce aux fortes concentrations elle est réversible pour la concentration de 5.10^{-4} et pour les concentrations inférieures, à condition que la durée du traitement soit brève. La reprise de l'activité mitotique (16 heures après la cessation d'un traitement d'une heure ou 48 heures après un traitement de 48 heures pour la concentration de 5.10^{-4} gr. par ex.) ne s'accompagne d'aucune figure cytologique anormale.

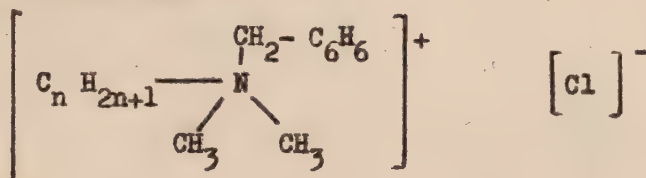
Il est donc possible d'utiliser le Laurylsulfonate de Sodium comme adjuvant dans les expériences sur *Allium sativum* L. jusqu'à concurrence de la concentration 2.10^{-4} g qui est inactive même après 7 jours de traitement.

C - ACTION D'UN MOUILLANT CATIONIQUE : LE CÉQUARTYL A

I - Données bibliographiques

Le chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium, connu sous le nom commercial de "Céquartyl A" en France, de Zephiran aux Etats-Unis, de Zephirol en Allemagne, appartient à la classe des dérivés de l'ammonium quaternaire et à la catégorie des mouillants à cation actif.

Sa formule est la suivante :



Le "Céquartyl A" et les sels d'ammonium quaternaire comportent dans leur molécule un groupe hydrophile constitué par l'anion et un groupe lipophile constitué par le cation d'où leur nom de "savons invertis".

Outre les propriétés communes à tous les mouillants, le "Céquartyl A" possède un pouvoir antiseptique 150 à 200 fois supérieur à celui du phénol officinal. Grâce à la polarité de sa molécule, le "Céquartyl A" a tendance à s'accumuler à la limite de séparation des phases liquides et solides. Ainsi en milieu aqueux pollué, les molécules de Céquartyl A s'adsorbent à la surface des bactéries, ce qui a pour conséquence d'augmenter la concentration d'antiseptique au voisinage immédiat des bactéries.

Ce produit, comme les divers sels d'ammonium quaternaire, a été d'un usage courant dans les diverses armées pendant la dernière guerre et cet usage s'est généralisé depuis 1945 en Hygiène et dans l'industrie alimentaire. Il est également utilisé pour la stérilisation des instruments de chirurgie et pour la désinfection de divers locaux.

Le chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium a fait l'objet de nombreux travaux de divers auteurs. G. Sneider (86) et H. Hornung (39) en 1935, P.G. Heineman (37) & C.C. Dunn (25-26) en 1937, J. Polonowski et J. Macheboeuf (72) en 1948, C. Lawrence (49) en 1950 ont trouvé un pouvoir bactéricide et un pouvoir bactériostatique certains de cette substance et ont précisé des concentrations actives. Dunn (25-26) en 1938 a conclu à un pouvoir fongicide remarquable de ce produit. G.M. Fair, S.L. Chang, M.E. Taylor et Winemann (28) en 1945, ont signalé une action amibicide du chlorure d'Alkyl diméthyl benzyl ammonium, ce que confirmaient plus tard J.F. Kessel et J.F. Moore (41) en 1946. C.A. Knight et W.M. Stanley (45), en 1945, M. Klein, S.S. Kalter et S. Mudd (43) en 1945 également, lui ont trouvé une action virulicide. H. A. Shelanski (84) en 1949, étudiant la toxicité de ce produit, a précisé les doses

léthales vis à vis des rats blancs et des cobayes ; il a signalé que des chiens ayant bu de l'eau contenant 2.10^{-5} g de Céquartyl A pendant 6 mois ne présentent ni signe d'intoxication ni lésion histologique.

Par contre, le chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium n'a bénéficié d' aucune étude sur les cellules d'origine végétale. Cependant certains corps de la catégorie des mouillants à cation actif ont été l'objet des travaux de certains des auteurs déjà cités : G. Dastugue et Boulonnais (15-16), V. Engler (27), A. Mirimanoff (61), O.M. Blanpin (7), etc ... Les conclusions , dans leur ensemble, s'accordent à trouver que la toxicité décroît des mouillants à cation actif aux mouillants non ioniques.

Nous nous proposons donc d'étudier l'action du "Céquartyl A" sur la germination et sur la croissance des grains de Blé, sur la croissance des plantules de Pois, enfin sur les racines d'Ail aux concentrations allant de 10^{-5} à 10^{-11} g.

II - Expériences personnelles

1°) Expériences sur le Triticum vulgare L.

a) Germination

Des concentrations allant de 10^{-5} à 10^{-8} g ont été mises en oeuvre pour étudier l'influence du "Céquartyl A" sur la germination et sur la croissance des tigelles et des radicelles des grains de Blé. Les nombres obtenus sont présentés dans les tableaux suivants :

Après 48 heures de traitement

Sur 100 grains de Blé	Grains germés	Grains commençant à germer	Grains non germés
Témoins	91	7	2
10^{-5} g	84	9	7
10^{-6} g	87	9	5
10^{-7} g	85	13	2
10^{-8} g	91	5	4

b) Croissance

./ ...

Après 48 heures de traitement

Moyenne en mm des	Tigelles	Radicelles
Témoins	3,8	12,3
10^{-5} g	3,8	12,3
10^{-6} g	3,7	12,2
10^{-7} g	3,7	12,9
10^{-8} g	4,3	12,1

Ainsi, nous constatons qu'aux concentrations étudiées le Céquartyl A n'exerce aucune action stimulante ou inhibitrice sur la germination des grains de Blé ni sur la croissance des tigelles et des radiculles.

2^e) Expériences sur le Pisum sativum L.

De nombreuses concentrations de "Céquartyl A", de 10^{-5} à 10^{-11} g, ont été mises en oeuvre en vue d'en déterminer l'action sur la croissance des racines des plantules de Pois. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Moyenne des allongements en mm en	1jour	2jours	3jours	4jours	5jours	6jours	7jours
Témoins	12,8	10,9	11	10,9	11,9		17,3
10^{-5} g	7,4	2,4	0,3	0	-		-
10^{-6} g	12	9,5	7,3	7,8	8,2		5
10^{-7} g	12,5	9,8	8,8	8,4	9,2		13,9
10^{-8} g	12,6	10,5	10,3	10,4	10,5		16
Témoins	13,1	13,8	15	14,6	14,8		
10^{-9} g	13,3	14	14	13,4	13,6		
10^{-10} g	13,2	13,4	14,7	13,9	13,8		
10^{-11} g	13,2	13,4	14,7	14,6	14,7		

Nous constatons donc que la croissance des racines de Pois est entravée en 3 jours à la concentration de 10^{-7} g et qu'elle est inhibée complètement en 4 jours à la concentration de 10^{-5} g. En aucun cas une action stimulante n'est observée.

32) Expériences sur l'*Allium sativum* L.

Etant donné la toxicité du Céquartyl A, nous utilisons des concentrations de 5.10^{-5} à 10^{-7} g dans les expériences sur l'Ail en vue d'une étude cytologique détaillée.

a) Concentration de 5.10^{-5} g

L'examen des méristèmes de racines d'Ail soumis à un traitement de 3 heures avec cette concentration nous montre un aspect normal des cellules et une activité mitotique intense. Cependant de très rares ponts chromosomiques (1 à 3 par méristème au maximum) sont observés, et l'intoxication est déjà forte. En effet, après leur report sur le liquide de Knop dilué au demi, ces racines évoluent néanmoins vers la mort peu de temps après.

Un traitement de 6 heures provoque chez les sujets une mito-dépression totale, une pycnose importante des noyaux quiescents et une chromatolyse partielle. La mise en retour dans le liquide de Knop dilué au demi ne les empêche pas de mourir quelques heures plus tard ; ce que confirme l'aspect flaccide et translucide des racines prélevées, racines qui dégagent déjà une odeur alliagée au bout de 3 heures d'expérience.

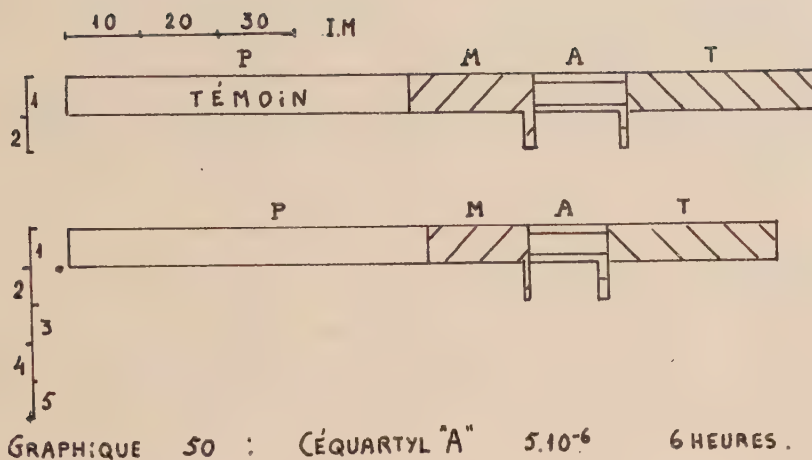
b) Concentration de 10^{-5} g

Les prélèvements des racines traitées pendant 3 heures, 6 heures et 8 heures nous montrent de nombreuses cellules en mitose, un aspect cytologique normal, ainsi que des ponts chromosomiques - très rares il est vrai (1 à 3 par méristème au maximum). Si on reporte les racines soumises à un traitement de 8 heures sur le liquide de Knop dilué au demi, on observe une reprise tardive (64 heures après) de l'activité mitotique. Ce qui démontre que l'intoxication, quoique précoce, est réversible à ce stade de traitement.

Après un traitement de 24 heures, on note une mito-dépression forte et les rares mitoses observées sont constituées uniquement par des prophases. Nous remarquons en outre quelques noyaux à contour irrégulier et une dilatation nucléolaire importante. Le report de ces racines sur le liquide de Knop dilué au demi n'empêche pas l'intoxication d'évoluer vers la mort. L'allongement des racines est fortement inhibé en 24 heures d'expérience (moyenne de 0,4 mm contre 5,3 mm chez les lots témoins).

c) Concentration de 5.10^{-6} g

Un traitement de 1 à 8 heures laisse l'activité mitotique normale et ne provoque ni anomalie cytologique ni disproportion des divers stades de la cinèse. En effet, les index mitotiques des méristèmes expérimentés durant 6 heures sont de 96,3 et 93,6 % contre 99 et 96,7 % chez les lots témoins.



L'interruption du traitement après 8 heures suivie du report sur le liquide de Knop dilué au demi des méristèmes nous permet de constater une intoxication légère et réversible par le "Céquartyl A" à cette concentration : la reprise des mitoses s'effectue normalement 48 heures plus tard.

Si nous poursuivons l'expérience, nous notons une forte mito-dépression à partir de 24 heures. Les numérations totales des méristèmes prélevés sont nécessaires : les mitoses sont constituées presque uniquement de prophases dont certaines sont en voie de régression.

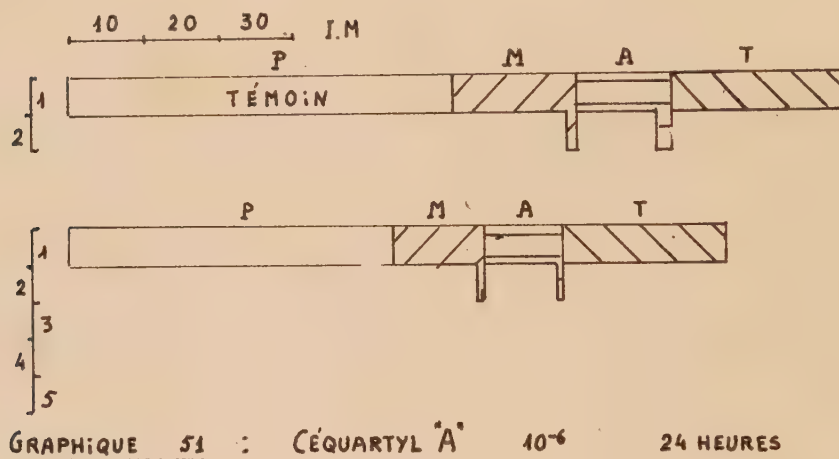
Nombre total de cinèses	Méristème I		Méristème II	
	90	%	38	%
Prophases	75	83,33	31	81,59
Prophases en régression	5	5,55	7	18,41
Métaphases	-	-	-	-
Anaphases	-	-	-	-
Télophases	10	11,12	-	-
Cellules binucléées	1		5	

Après un traitement de 48 heures, les méristèmes ne présentent plus de mitoses et on observe une pycnose importante des noyaux quiescents.

Les racines d'Ail en expérience deviennent turgescents et leur allongement est inhibé de bonne heure (moyenne de 1,4 mm contre 4,6 mm chez les témoins le 1er jour, moyenne de 0,7 mm contre 4,8 mm le 2ème jour). Nous notons la présence de quelques racines flaccides à partir de 24 heures de traitement.

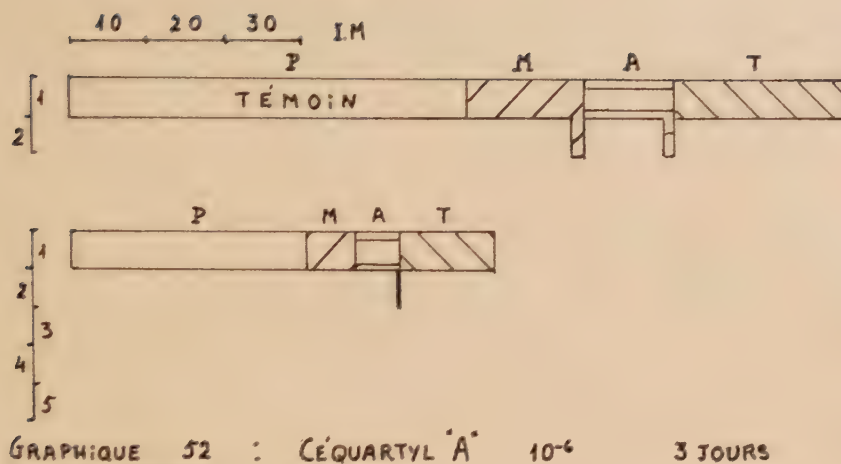
d) Concentration de 10^{-6} g

Les méristèmes des racines traitées, à cette concentration, durant 24 et 48 heures, nous montrent à l'examen microscopique un aspect cytologique normal et une activité mitotique intense. Les index mitotiques sont de 97,5 et 97,4 ‰ contre 103,1 et 100,6 ‰ chez les témoins le 1er jour.



Après 3 jours d'expérience, on observe un net ralentissement de l'entrée en cinèse chez les méristèmes prélevés. En effet les index mitotiques sont de 60,1 et 55,3 ‰ contre 104,1 et 102,3 ‰ chez les témoins.

./...



Au bout du 4^{ème} jour, l'action mito-dépressive du "Céquartyl A" est telle qu'une numération totale est nécessaire. En aucun cas, nous n'avons noté une disproportion des divers stades de la cinèse ni de figure anormale.

Nombre total de cinèses	Méristème I		Méristème II	
	147	%	303	%
Prophases	60	40,82	153	50,49
Métaphases	17	11,56	34	11,22
Anaphases	25	17	32	10,57
Télophases	45	30,62	84	27,72

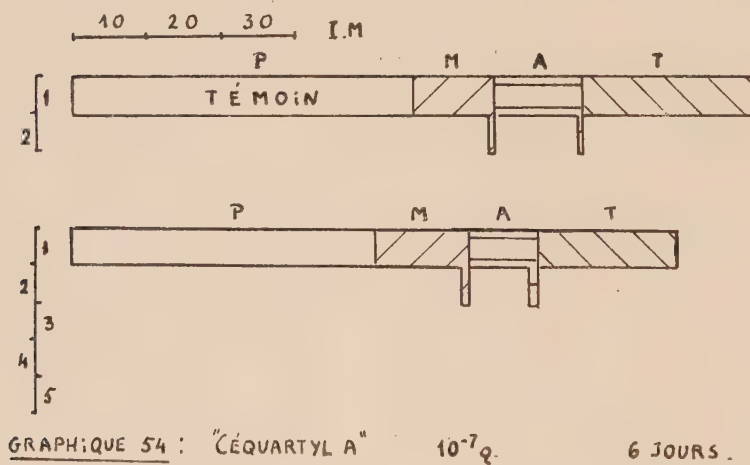
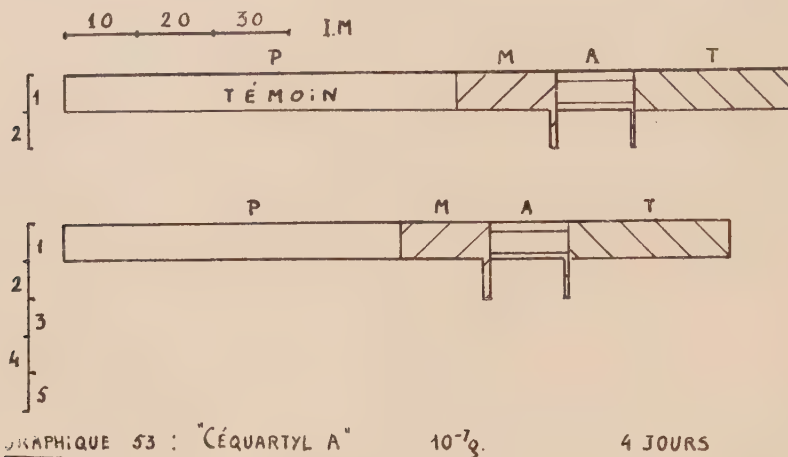
A partir de ce moment, l'intoxication évolue rapidement : les mitoses disparaissent complètement des méristèmes prélevés et la mort survient peu de temps après.

La croissance des racines d'Ail n'est pas perturbée durant les 2 premiers jours de traitement. Mais à partir du 3^{ème} jour, l'allongement est ralenti d'une manière sensible et progressive pour s'arrêter au 5^{ème} jour (moyenne de 2,5 mm contre 4,8 mm chez les témoins le 3^{ème} jour, moyenne de 1,2 mm contre 4,2 mm le 4^{ème} jour et moyenne de 0,4 mm contre 4 mm le 5^{ème} jour). Durant cette expérience, les racines deviennent turgescentes puis flaccides plus tard.

e) Concentration de 10^{-7} g

A cette concentration, un traitement prolongé nous révèle une innocuité quasi

totale du "Céquantyl A" tant vis à vis de l'activité mitotique que de la croissance des racines d'Ail. En effet, les index mitotiques des méristèmes soumis à l'expérience restent sensiblement égaux à ceux du lot témoin : index mitotiques de 88,2 et 86,1 % contre 97 et 94,3 % après 4 jours de traitement et de 83,3 et 80,6 % contre 94,2 et 90,7 % après le 6ème jour.



L'allongement des racines traitées est encore sensiblement égal à celui des témoins même après 6 jours d'expérience.

Conclusions

Le chlorure d'alkyl diméthyl benzyl ammonium présente une toxicité forte e t

précoce et une action presque exclusivement mito-dépressive.

A part quelques très rares popts chromosomiques (1 à 3 par méristème au maximum) observés aux concentrations de 10^{-5} et de 5.10^{-5} g, nous n'avons à aucun moment décelé une action mitoclasique nette ou une action chromatoclasique.

Les résultats de nos expériences nous autorisent à conclure que la toxicité du "Céquartyl A" est plus forte que celle du Laurylsulfonate de Sodium. Si l'action toxique est précoce dans les deux cas, le Laurylsulfonate de Na n'agit qu'à partir de la concentration de 3.10^{-4} g alors que le Céquartyl A agit à partir de celle de 10^{-6} g.

Sur ce point, nous apportons la confirmation du classement, généralement admis, des trois catégories de mouillants en fonction de leur toxicité : le Tween 80 est quasi atoxique, le Laurylsulfonate de Sodium toxique mais moins que le Céquartyl A.

En conclusion de nos expériences sur le Céquartyl A ce corps peut être utilisé comme adjuvant à la concentration de 10^{-7} g pour une expérience de longue durée sur l'Ail ou à la concentration de 10^{-6} g pendant une durée inférieure à 48 heures.

D - ACTION DE DIVERSES ASSOCIATIONS DE MOUILLANTS

I - Données bibliographiques

Si un certain nombre d'auteurs tels que R. Charonnat et P. Lechat (10), G. Dastugue et M. Boulonnais (16), A. Quevauviller et O.M. Blanpin, (75), O.M. Blanpin (70) A. Cier, B. Drevon et M. Faure (11) se sont penchés sur l'étude des associations d'un mouillant avec une substance médicamenteuse, les travaux sur le comportement biologique des mélanges que forment les mouillants entre eux sont très peu nombreux. En effet, seul E. Neuzil (66), en 1952, s'est intéressé à la question et il a étudié les propriétés physico-chimiques et biologiques des associations moléculaires de Tweens avec divers mouillants ionisés.

D'une part, E. Neuzil a conclu à l'inhibition par les Tweens de la formation de figures myéliniques dans le système cholestérol-laurylsulfate de sodium, à l'augmentation par les Tweens de la solubilité à froid de certains mouillants ionisés (Laurylsulfate de Sodium - Cetavlon - Biocidan, etc ...) et enfin à l'inhibition par les Tweens de la précipitation mutuelle de substances mouillantes anioniques et cationiques (par exemple l'inhibition de la précipitation du Laurylsulfate de Sodium et du Biocidan par les Tweens).

D'autre part, E. Neuzil, étudiant sur la Daphnie la toxicité de diverses associations que forment les Tweens avec les différentes substances mouillantes ionisées, a observé que la présence du Tween 80 augmente considérablement la durée de survie du crustacé en présence de l'agent cationique (Désogène) ou de l'agent anionique (Laurylsulfate de Sodium). Des mélanges de mouillants ionisés et du Tween 40, mis en oeuvre sur le rat, ne mettent pas en évidence le phénomène de détoxication, car selon cet auteur, la lipase tissulaire détruirait rapidement le Tween et empêcherait la compétition entre les deux substances en présence.

Mettant à profit les conclusions de E. Neuzil, nous allons étudier l'action sur les méristèmes de racines d'Ail, d'une association de Tween 80 avec un mouillant anionique (Laurylsulfonate de Sodium) d'une part et avec un mouillant cationique (Cé-quartyl A) d'autre part.

Il est à signaler que les concentrations de mouillants mis en oeuvre ici ont fait déjà l'objet d'une étude dans les chapitres correspondants.

II - Action d'un mélange de solutions de Tween 80 et de Laurylsulfonate de Sodium sur l'*Allium sativum* L.

Par nos expériences antérieures, nous savons que le Tween 80 est atoxique pour les méristèmes de racines d'Ail, même après un traitement de longue durée, que le Laurylsulfonate de sodium, à la concentration de 5.10^{-4} g, exerce rapidement une action mito-dépressive nette (au bout de 3 heures) et la mort des sujets traités en moins de 48 heures, et que la concentration de 10^{-4} g est inactive.

Nous nous proposons donc d'étudier, sur l'Ail, l'influence des mélanges renfermant d'une part le Tween 80 (aux concentrations de 10^{-2} g et 5.10^{-3} g) et d'autre part le Laurylsulfonate de sodium (aux concentrations de 5.10^{-4} g et 10^{-4} g).

De nombreux témoins sont nécessaires à chaque expérience :

- un témoin sur le liquide de Knop dilué au demi,
- un témoin du Tween 80,
- un témoin du Laurylsulfonate de sodium.

Nous avons opéré des prélèvements quotidiens et les numérations des méristèmes après un traitement de 24 heures, 3 jours et 5 jours.

a) Association du Tween 80 à 10^{-2} g avec le Laurylsulfonate de sodium à 5.10^{-4} g

Les méristèmes des racines du témoin Tween 80 (à la concentration de 10^{-2} g) présentent constamment une activité mitotique normale par rapport à celle du témoin Knop.

La concentration de 5.10^{-4} g du Laurylsulfonate de sodium provoque, chez les sujets traités, une mito-dépression forte en 24 heures et leur mort en moins de 48 heures.

Mais au cours de l'expérience proprement dite (mélange de Tween 80 à 10^{-2} g et du Laurylsulfonate de sodium à 5.10^{-4} g) nous n'avons jamais observé ni action toxique ni anomalie cytologique.

Les numérations, effectuées sur les méristèmes traités pendant 24 heures, 3 jours, et 5 jours, nous donnent les index mitotiques suivants :

	I.M. en 24h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	94,5 %	91,1 %	92,8 %
Témoin Tween 80 à 10^{-2} g	93 %	89,6 %	90,6 %
Témoin Laurylsulfonate de sodium à 5.10^{-4} g	30 mitoses	mort	-
<u>Expérience I :</u>			
(Tween 80 à 10^{-2} g + L.S. à 5.10^{-4} g)	95 %	91 %	83,2 %

Nous constatons que les sujets, soumis à un traitement d'un mélange de Tween 80 à 10^{-2} g et de Laurylsulfonate de Sodium à 5.10^{-4} g, n'ont pas, pendant plusieurs jours, subi l'action toxique du mouillant anionique. C'est seulement à partir du 5ème jour d'expérience qu'un léger ralentissement de l'activité mitotique est noté.

L'allongement des racines du témoin Tween 80, normal durant les premiers jours, est ralenti au bout du 3ème jour (moyenne de 4,5 mm contre 5,5 mm chez les témoins Knop le 3ème jour, moyenne de 3,4 mm contre 5,4 mm le 4ème jour et moyenne de 3,5 mm contre 5,7 mm le 5ème jour).

La croissance des racines d'Ail traitées par l'association de Tween 80 avec le Laurylsulfonate de Sodium, normale le 1er jour, décroît les jours suivants sans que le rythme de l'entrée en cinèse en soit perturbé (moyenne de 3,4 mm contre 5,7 mm chez les lots témoins Knop le 2ème jour, moyenne de 3,2 mm contre 5,5 mm le 3ème jour, moyenne de 3 mm contre 5,4 mm le 4ème jour, et moyenne de 3 mm contre 5,7 mm le 5ème jour).

b) Association de Tween 80 à 5.10^{-3} g avec le Laurylsulfonate de Sodium à 5.10^{-4} g

La concentration de Tween 80 à 5.10^{-3} g est inactive tant sur le rythme de l'entrée en cinèse des cellules méristématiques que sur la croissance des racines traitées.

La concentration de 5.10^{-4} g de Laurylsulfonate de Sodium provoque la mort des sujets en moins de 48 heures.

Si le mélange de solutions de Tween 80 à 5.10^{-3} g et de Laurylsulfonate de Sodium à 5.10^{-4} g n'agit pas sur l'activité mitotique des méristèmes soumis au traitement pendant les premiers jours, un abaissement sensible de l'index mitotique est observé à partir du 5ème jour. Cette action mito-dépressive s'accroît alors rapidement les jours suivants pour être complète au bout de 7 jours d'expérience. A aucun moment, nous n'avons noté de figure cytologique anormale.

L'allongement des racines traitées, normal jusqu'au 4ème jour, est inhibé à partir de ce moment et au 6ème jour il ne représente plus que la moitié de la valeur du témoin Knop (moyenne de 2,8 mm contre 5,5 mm le 6ème jour).

Les index mitotiques des méristèmes prélevés en 24 heures, 3 jours et 5 jours sont présentés dans ce tableau :

	I.M. en 24 h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	95,3 %	94,6 %	93,1 %
Témoin Tween 80 à 5.10^{-3} g	97 %	95,2 %	91,6 %
Témoin Laurylsulfonate de Sodium à 5.10^{-4} g	83 mitoses	mort	-
<u>Expérience II :</u>			
(Tween 80 à 5.10^{-3} g + L.S. Na à 5.10^{-4} g)	93,1 %	92,5 %	49,1 %

c) Association de Tween 80 à 10^{-2} g avec le Laurylsulfonate de sodium à 10^{-4} g

Nous utilisons ici les mêmes témoins de Knop et de Tween 80 que ceux de l'expérience I.

Le témoin de Laurylsulfonate de Sodium à 10^{-4} g est inactif sur les racines d' Ail traitées.

Le mélange de Tween 80 à 10^{-2} g et de Laurylsulfonate de Sodium à 10^{-4} g est sans action sur les méristèmes traités pendant toute la durée de l'expérience : en effet les numérations des prélèvements de méristèmes nous montrent que les index mitotiques sont sensiblement égaux à ceux des témoins Knop.

	I.M. en 24 h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	94,5 ‰	91,1 ‰	92,8 ‰
Témoin Tween 80 à 10^{-2} g	93 ‰	89,6 ‰	90,6 ‰
Témoin Laurylsulfonate de sodium à 10^{-4} g	96,2 ‰	90,8 ‰	91,9 ‰
<u>Expérience III :</u> (Tween 80 à 10^{-2} g + L.S. Na à 10^{-4} g)	99,1 ‰	86,1 ‰	92,5 ‰

A tout moment de l'expérience, l'allongement des racines ainsi traitées est sensiblement égal à celui des lots-témoins.

d) Association de Tween 80 à 5.10^{-3} g avec le Laurylsulfonate de sodium à 10^{-4} g.

Aucune action du mélange de Tween et du mouillant anionique ne se manifeste, tant sur l'activité mitotique des cellules méristématiques, que sur la croissance des racines traitées. Les index mitotiques des méristèmes prélevés au bout de 24 heures, de 3 jours et de 5 jours sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	I.M. en 24 h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	95,3 ‰	94,6 ‰	93,1 ‰
Témoin Tween 80 à 5.10^{-3} g	97 ‰	95,2 ‰	91,6 ‰
Témoin Laurylsulfonate de sodium à 10^{-4} g	94,8 ‰	93,7 ‰	90,9 ‰
<u>Expérience IV :</u> (Tween 80 à 5.10^{-3} g + L.S. Na à 10^{-4} g)	96,2 ‰	93,4 ‰	92 ‰

e) Conclusions

A la suite de ces travaux, nous constatons que la toxicité du Laurylsulfonate de sodium à la concentration de 5.10^{-4} g est complètement supprimée par l'addition d'une solution de Tween 80, à la concentration de 10^{-2} g, pendant les premiers jours de l'expérience ; un léger abaissement de l'activité mitotique est observé à partir du 5^e jour de traitement (Index mitotique de 83,2 % contre 92,8 % chez les lots - témoins Knop). Par contre, si le Tween 80, à la concentration de 5.10^{-3} g parvient à contre-balancer l'action toxique d'une concentration de 5.10^{-4} g de Laurylsulfonate de Sodium pendant 3 jours d'expérience, une action mito-dépressive nette du mouillant anionique se manifeste à partir de ce moment et s'accroît rapidement pour empêcher toute entrée en cinèse des cellules au bout de 7 jours.

Aucune action sur l'activité des méristèmes de racines d'Ail n'est obtenue avec des mélanges de Laurylsulfonate à la concentration de 10^{-4} g et de Tween 80 soit à la concentration de 10^{-2} g soit à celle de 5.10^{-3} g.

A aucun moment de ces expériences, nous n'avons observé de figures cytologiques anormales.

III - Action d'un mélange de solutions de Tween 80 et de chlorure d'alkyl diméthyl - benzyl ammonium (Céquartyl A) sur l'Ail - Allium sativum L.

Les concentrations de Tween 80 utilisées ici sont les mêmes que celles des expériences précédentes (10^{-2} g et 5.10^{-3} g) afin de nous permettre de comparer l'influence exercée sur les racines d'Ail par associations de Tween 80 avec le Laurylsulfonate de Sodium d'une part et par celles de Tween 80 avec le Céquartyl A d'autre part.

Nous mettons en oeuvre deux concentrations de Céquartyl A : l'une à 5.10^{-6} g provoquant la mort des méristèmes de racines d'Ail en moins de 48 heures, l'autre à 10^{-6} g une action mito-dépressive nette à partir de 3 jours.

Chaque expérience comprend :

- un témoin Knop
- un témoin Tween 80
- un témoin "Céquartyl A."

a) Association de Tween 80 à 10^{-2} g et de "Céquartyl A" à 5.10^{-6} g

L'activité mitotique des méristèmes de racines traitées par le Tween 80 à 10^{-2} g reste sensiblement égale à celle des méristèmes radiculaires du témoin Knop.

Le "Céquartyl A", à la concentration de 5.10^{-6} g utilisée, inhibe fortement le rythme de l'entrée en cinèse de cellules méristématiques traitées pendant 24 heures et provoque leur mort en moins de 48 heures.

Avec le mélange de Tween 80 et de "Céquartyl A", nous constatons que les méristèmes

de racines d'Ail présentent le 1er jour un index mitotique égal à celui du témoin Knop; les jours suivants, leur activité mitotique est inhibée progressivement mais nettement comme le montrent ces nombres :

	I.M. en 24 h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	82,7 % ₂	90,3 % ₂	90,6 % ₂
Témoin Tween 80 à 10^{-2} g	86,2 % ₂	87,6 % ₂	84,7 % ₂
Témoin "Céquartyl A" à 5.10^{-6} g	172 mitoses	mort	-
<u>Expérience V :</u>			
(Tween 80 à 10^{-2} g + "Céquartyl A" à 5.10^{-6} g)	81,4 % ₂	77,4 % ₂	51,4 % ₂

La croissance des racines traitées par cette association de mouillants, normale les deux premiers jours, est ralentie à partir du 3ème. En effet, les allongements moyens déterminés nous fournissent les résultats suivants : moyenne de 2,2 mm contre 4,5 mm chez les lots témoins Knop le 3ème jour, moyenne de 1,8 mm contre 4,3 mm le 4ème jour, moyenne de 1,4 mm contre 4,6 mm le 5ème jour et moyenne de 0,3 mm contre 4 mm le 7ème jour.

b) Association de Tween 80 à 5.10^{-3} g avec le "Céquartyl A" à 5.10^{-6} g

Les lots témoins de Knop et "Céquartyl" à 5.10^{-6} g sont les mêmes que ceux de l'expérience V.

L'activité mitotique des méristèmes de racines d'Ail traités par le Tween 80 à la concentration de 5.10^{-3} g reste toujours sensiblement parallèle à celle des méristèmes radiculaires du témoin Knop.

L'addition d'une solution de Tween 80 à la solution de "Céquartyl A" à la concentration de 5.10^{-6} g n'arrive qu'à retarder l'action toxique du mouillant cationique pendant les deux premiers jours ; une mito-dépression presque totale est observée chez les méristèmes prélevés au 3ème jour et la mort survient peu de temps après. Le tableau suivant nous présente les index mitotiques obtenus :

	I.M. en 24 H.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	82,7 % ₂	90,3 % ₂	90,6 % ₂
Témoin Tween 80 à 5.10^{-3} g	80,2 % ₂	84,4 % ₂	85,8 % ₂
Témoin "Céquartyl A" à 5.10^{-6} g	172 mitoses	mort	-
<u>Expérience VI</u>			
(Tween 80 à 5.10^{-3} g + "Céquartyl A" à 5.10^{-6} g)	72,2 % ₂	12 mitoses	-

La croissance des racines en expérience, normale par rapport à celle du témoin Knop pendant 48 heures, est brusquement inhibée au 3ème jour (moyenne de 1,2 mm contre 4,5mm) et s'arrête complètement le jour suivant.

c) Association de Tween 80 à 10^{-2} g avec le "Céquartyl A" à 10^{-6} g

Nous utilisons ici les mêmes lots témoins de Knop et de Tween 80 que ceux de l'expérience V.

Le "Céquartyl A", à la concentration de 10^{-6} g, sans action sur le rythme d'entrée en mitose des cellules méristématiques traitées pendant 24 heures, exerce rapidement une action mito-dépressive à partir de ce moment et provoque un arrêt presque total de la cinèse le 5ème jour. La mort des racines en expérience survient peu de temps après.

Par contre, les racines d'Ail, soumises au traitement d'un mélange de Tween 80 à 10^{-2} g et de "Céquartyl A" à 10^{-6} g, présentent constamment une activité mitotique normale et leur croissance reste sensiblement égale à celle du lot témoin Knop pendant toute la durée de traitement (7 jours).

Les index mitotiques des méristèmes traités pendant 24 heures, 3 jours et 5 jours sont présentés dans le tableau ci-dessous :

	I.M. en 24 h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	82,7 %	90,3 %	90,6 %
Témoin Tween 80 à 10^{-2} g	86,2 %	87,6 %	84,7 %
Témoin "Céquartyl A" à 10^{-6} g	76,5 %	68 %	5 mitoses
<u>Expérience VII</u>			
(Tween 80 à 10^{-2} g + "Céquartyl A" à 10^{-6} g).	87,2 %	82,5 %	84,1 %

d) Association de Tween 80 à 5.10^{-3} g avec le "Céquartyl A" à 10^{-6} g

Les témoins de Knop, de Tween 80 à 5.10^{-3} g et de "Céquartyl A" à 10^{-6} g sont les mêmes que ceux des expériences VI et VII.

Les racines d'Ail, traitées par le mélange de Tween à 5.10^{-3} g et de "Céquartyl A" à 10^{-6} g, ont une activité mitotique normale le 1er jour. A partir de ce moment, un net ralentissement du rythme de l'entrée en cinèse des cellules méristématiques est observé : en effet, les index mitotiques sont de 69,9 % cellules contre 90,3 % chez les lots témoins Knop le 3ème jour et de 64,7 % contre 90,6 % le 5ème jour.

La croissance des racines, soumises à ce traitement, reste normale par rapport au témoin Knop pendant 48 heures et elle est inhibée à partir du 3ème jour d'expérience :

moyenne de 3,5 mm contre 4,5 mm le 3ème jour, moyenne de 2,1 mm contre 4,3 mm le 4ème jour, moyenne de 1,7 mm contre 4,6 mm le 5ème jour et moyenne de 1,1 mm contre 4 mm le 7ème jour.

Le tableau ci-dessous présente les index mitotiques des méristèmes traités pendant 24 heures, 3 jours et 5 jours.

	I.M. en 24 h.	I.M. en 3 j.	I.M. en 5 j.
Témoin Knop	82,7 % ₂	90,3 % ₂	90,6 % ₂
Témoin Tween 80 à 5.10^{-3} g	80,2 % ₂	84,4 % ₂	85,8 % ₂
Témoin "Céquartyl A" à 10^{-6} g	75,5 % ₂	68 % ₂	5 mitoses
<u>Expérience VIII</u>			
(Tween 80 à 5.10^{-3} g + "Céquartyl A" à 10^{-6} g)	88,3 % ₂	69,9 % ₂	64,7 % ₂

e) Conclusions

De ces expériences, nous constatons que la présence du Tween 80 -à la concentration de 10^{-2} g- dans un mélange de Tween 80 et de "Céquartyl A", prolonge considérablement la durée de survie des cellules méristématiques de racines d'Ail en atténuant d'une façon notable, l'effet toxique du mouillant cationique utilisé à la concentration de 5.10^{-6} g ; cette "protection" peut-être complète en présence d'une concentration de 10^{-6} g de "Céquartyl A".

Par contre, si la concentration de 5.10^{-3} g de Tween 80 parvient à retarder de 24 heures l'action léthale d'une concentration de 5.10^{-6} g de "Céquartyl A", elle ne peut empêcher l'intoxication de s'accroître et d'évoluer vers la mort peu de temps après. La détoxification du "Céquartyl A", employé à la concentration de 10^{-6} g par l'addition d'une solution de Tween 80 à 5.10^{-3} g n'est pas complète car nous observons un net abaissement des index mitotiques des méristèmes traités pendant 3 jours. De toutes façons, la durée de survie des racines d'Ail en expérience est prolongée d'une façon considérable.

IV - Conclusions générales

Après les études de l'influence sur l'Ail, des associations de Tween 80 avec le Laurylsulfonate de Sodium d'une part et avec le "Céquartyl A" d'autre part, nous sommes amenés à constater que l'addition de Tween 80, à une concentration convenable, diminue notablement la toxicité des agents mouillants ionisés. Tout se passe comme si le Tween 80 jouait le rôle d'un antidote.

En effet, à la concentration de 10^{-2} g, le Tween 80 parvient à inhiber plus ou moins complètement et pendant un certain temps la toxicité du mouillant ionisé, prolongeant ainsi la durée de survie des racines d'Ail d'une manière considérable : le

Laurylsulfonate de sodium, provoquant seul la mort des racines d'Ail en moins de 48 heures à la concentration de 5.10^{-4} g, devient peu actif après l'addition d'une solution de Tween (à 10^{-2} g); son action mito-dépressive, pourtant précoce et intense, ne se manifeste que faiblement après plusieurs jours d'expérience (5 jours). A un degré moindre, le même phénomène de détoxication est observé avec le "Céquartyl A" à la concentration de 5.10^{-6} g qui causerait en l'absence de Tween 80 la mort des sujets traités en moins de 48 heures; nous observons une action mito-dépressive d'un mouillant cationique à partir du 3^{ème} jour d'expérience seulement.

Quant aux concentrations inférieures de mouillants ionisés (Laurylsulfonate de sodium à 10^{-4} g et "Céquartyl" à 10^{-6} g) elles subissent une détoxication quasi complète par le Tween 80 à la concentration de 10^{-2} g.

A la concentration de 5.10^{-3} g, le Tween 80 atténue également la toxicité du mouillant ionisé mis en oeuvre mais la détoxication n'est pas durable. En effet, l'action mito-dépressive forte du mouillant ionisé est observée à partir de 5 jours avec le Laurylsulfonate de sodium à la concentration de 5.10^{-4} g, après 24 heures avec le "Céquartyl A" aux concentrations de 5.10^{-6} g et de 10^{-6} g.

Il est à remarquer qu'il nous faut une grande proportion de Tween 80 par rapport à l'agent mouillant ionisé pour obtenir une diminution nette de la toxicité (20 fois plus de Tween 80 avec le Laurylsulfonate de Sodium et 2000 fois plus avec le Céquartyl).

Comment expliquer la détoxication des mouillants ionisés par un mouillant non ionique tel que le Tween 80? N'ayant pas le temps matériel pour approfondir cette question, nous nous contentons d'adopter provisoirement l'hypothèse de E. Neuzil (66) et nous espérons pouvoir revenir plus tard sur ce problème.

"Nous pouvons remarquer tout d'abord que les concentrations en Tween efficaces sont toujours supérieures à la concentration critique de la formation des micelles (environ 0,5 g/litre à la température ordinaire). On peut donc penser que l'agent ionisé forme des micelles mixtes avec les molécules de Tween, micelles à l'intérieur desquelles il se trouve en quelque sorte emprisonné. Cette explication valable pour l'action inhibitrice d'un composé insoluble ne semble pouvoir convenir ici: les deux composés de la micelle, Tween et agent ionisé, sont tous les deux très solubles dans l'eau; la micelle ne représente qu'une entité statistique et se trouve, à chaque instant, en équilibre avec la phase aqueuse intermédiaire, solution moléculaire saturée en Tween et en agent actif ionisé.

Il semble préférable d'admettre l'existence d'une compétition entre les molécules de Tween et celles de l'agent ionisé par un même "récepteur" (E. Neuzil (66))

CHAPITRE V

APPLICATION DES RESULTATS OBTENUS A L'ETUDE DES DIVERSES SUBSTANCES REPUTEES INSOLUBLES

A la suite des études sur quelques adjuvants de solubilisation, nous avons trouvé qu'il est possible d'en utiliser dans les expériences de Pharmacodynamie cellulaire effectuées sur du matériel végétal ; nous allons donc essayer d'appliquer les résultats obtenus à l'étude de diverses substances trouvées inactives du fait de leur insolubilité : Théobromine - Mercaptopurine - Colchicimidazole - Colchaminone - Benzylthiothiazolidone - 2 - Thio diamino 4-6 pyrimidine .

Partie expérimentale

1^o) Théobromine

Malgré nos tentatives, ce produit reste insoluble aussi bien dans les solvants de la série alcoolique (alcool éthylique - éthylène - glycol - propylène-glycol - glycérol) que dans les solutions concentrées de Tween 80, de Laurylsulfonate de sodium et de "Céquartyl A."

2^o) Mercaptopurine

La mercaptopurine se dissout à chaud dans l'éthylène-glycol, dans le propylène-glycol et dans le glycérol mais elle se précipite à l'addition du liquide Knop dilué au demi ou de l'eau distillée.

Ce corps reste quasi insoluble dans les solutions concentrées de mouillants.

3^o) Colchimidazole - Colchaminone

Ce dérivé de la colchicine et de la guanidine, obtenu par synthèse par Fourneau & Grundland, a fait l'objet d'une étude par G. Deysson et R. Truhaut (95). Ces deux auteurs n'ont pu obtenir des résultats satisfaisants avec ce produit étant donné sa très faible solubilité dans l'eau ou dans le liquide de Knop.

Nos essais de solubilisation de la colchimidazole- colchaminone dans les solvants en question nous donnent les résultats suivants : ce corps est solubilisé par l'éthylène-glycol, par le propylène-glycol et par le glycérol (mais difficilement) ; à des doses infimes, nous obtenons des solutions saturées dans le Tween 80 et dans le laurylsulfonate de sodium ; ce produit est soluble dans une solution de "Céquartyl A" concentrée.

Les solutions obtenues possèdent la même coloration rouge-orangée que celle du corps cristallisé, et leur dilution dans de l'eau ou dans du liquide de Knop ne donne pas de précipité.

Ne disposant qu'une très faible quantité de ce produit, nous nous contentons d'en faire un seul essai sur les racines d'Ail avec une concentration de $2.10^{-8}g$ dans une solution de Céquartyl A à $10^{-6}g$ pendant une durée inférieure à 48 heures.

Nous n'avons pu obtenir un résultat probant étant donné la très faible concentration de la colchimidazole-colchaminone mise en oeuvre et l'action mitodépressive exercée par le solvant lorsque la durée de l'expérience dépasse 48 heures.

Nous espérons pouvoir reprendre nos recherches dès l'obtention d'une quantité suffisante de ce produit.

4^e) Benzylthiothiazolidone

La benzylthiothiazolidone a fait l'objet d'une étude de G. Deysson et de R. Truhaut (96). A cause de son insolubilité dans l'eau, ces auteurs ont mis en oeuvre une solution saturée filtrée ($5.10^{-8}M$) et ils ont conclu que "ce corps est pratiquement inactif dans les conditions où il est possible de l'utiliser pour ces expériences".

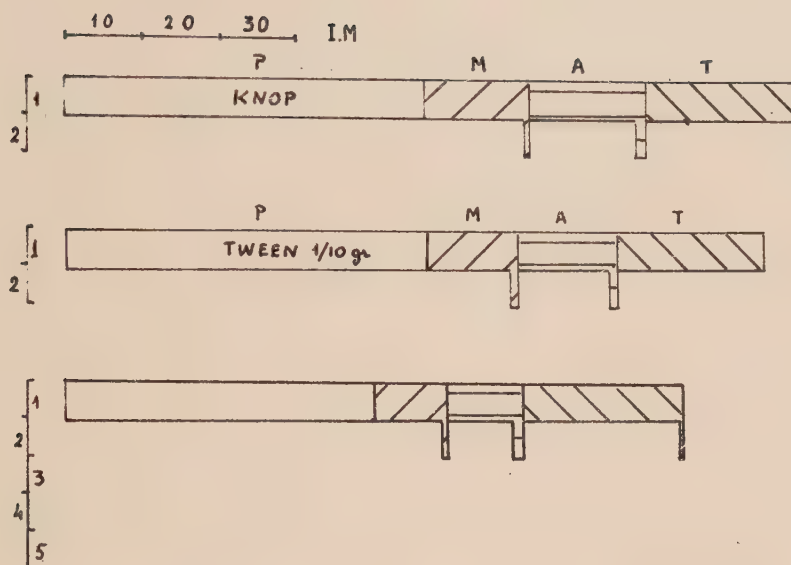
La benzylthiothiazolidone est solubilisée à chaud dans de l'éthylène-glycol, dans du propylène-glycol mais plus difficilement ; elle reste insoluble dans le glycérol et dans une solution concentrée de laurylsulfonate de sodium. Le "Céquartyl A" la dissout à chaud mais un précipité se forme après refroidissement. Le Tween 80 la dissout à chaud et les dilutions obtenues à l'aide du liquide de Knop restent limpides.

Nous portons donc notre choix sur le Tween 80 comme adjuvant de solubilisation de la Benzylthiothiazolidone et nous avons réalisé deux séries d'expériences sur l'Ail : la première avec une solution de Tween saturée, la seconde avec la concentration de $10^{-6}M$ du produit. Toutes les deux concentrations de la Benzylthiothiazolidone ont été expérimentées avec une solution de Tween à $1/10g$.

a) Concentration de Tween à $1/10g$ saturée de Benzylthiothiazolidone ($10^{-5}M$).

Un traitement de 24 heures provoque déjà une légère diminution de l'activité mitotique des cellules méristématiques de racines d'Ail. En effet, les index mitotiques sont de 82,2 et 81,7 %₂ contre 92 et 90,5 %₂ chez les témoins Tween 80 et contre 96,3 et 95 %₂ chez les témoins Knop.

./ ...

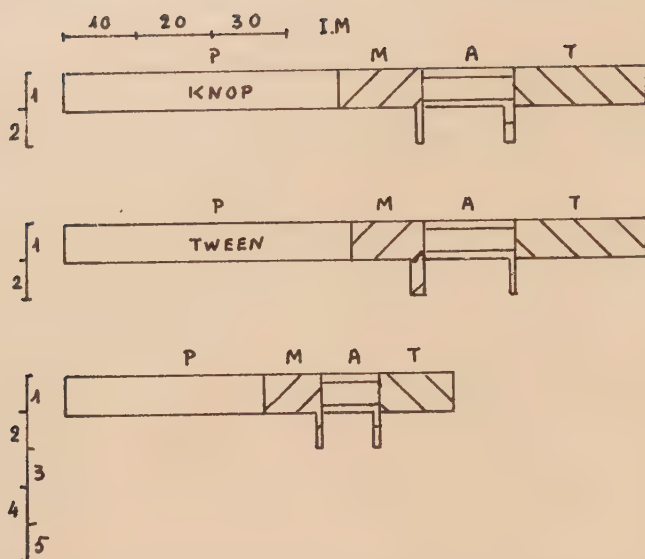


GRAPHIQUE 55 : (BENZYLTHIOTHIAZOLIDONE $10^{-5}M$ + TWEEN 80 $1/10g$)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS.

24 HEURES.

L'action mito-dépressive de la Benzylthiothiazolidone s'accroît les jours suivants et les numérations des méristèmes traités nous fournissent les nombres suivants : après 3 jours, les index mitotiques sont de 51,7 et 49,8 %₂ contre 77,3 et 76 %₂ chez les lots témoins Tween 80 et contre 77,5 et 76,4 %₂ chez les témoins Knop. Nous remarquons que le stade télophasique est en nette diminution (18,62 et 17,66 % des cinèses contre 24 et 24,33 % chez les témoins Tween 80).

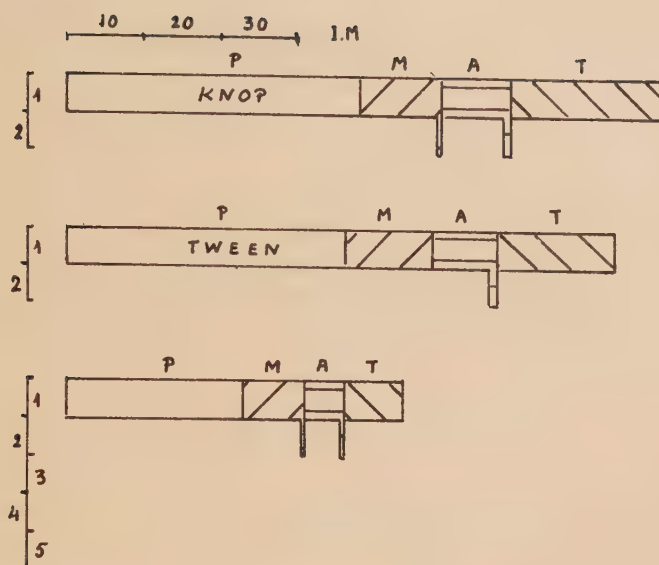
./..



GRAPHIQUE 56 : (BENZYLTHIOHIAZOLIDONE $10^{-5}M$ + TWEEN 80 $1/10 g$) 3 JOURS.
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS.

Après 5 jours de traitement, les index mitotiques sont de 48,7 et 44,9 %₂ contre 74 et 72,7 %₂ chez les témoins Tween 80 et contre 78,1 et 76,1 %₂ chez les témoins Knop. Une disproportion des divers stades de la cinèse est observée : les métaphases sont en augmentation (18,4 et 17,66 % des mitoses contre 12,33 et 11,66 % chez les témoins Tween 80), et les télophases sont en nette diminution (16,78 et 16,33 % des mitoses contre 23,33 et 24,67 % chez les témoins Tween 80). Ceci montre qu'il existe à côté d'une action mito-dépressive du produit mis en oeuvre, un blocage du stade métaphasique.

./ ...



GRAPHIQUE 57 : (BENZYLTHIOTHIAZOLIDONE $10^{-5}M$ + TWEEN 80 1/10 g.)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 5 JOURS.

L'action toxique de la Benzylthiothiazolidone s'accroît alors rapidement : le nombre de mitoses devient rare et la mort survient au 7^{ème} jour.

La croissance des racines traitées, normale durant 48 heures, est inhibée à partir du 3^{ème} jour ; aucun allongement n'est observé au 7^{ème} jour. Les allongements moyens obtenus sont résumés dans ce tableau :

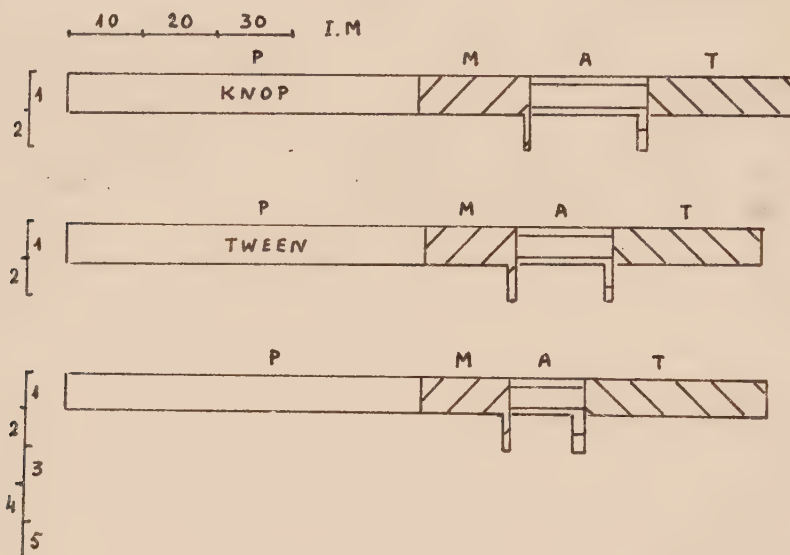
Moyenne des allongements en m/m en	3jours	4jours	5jours	6jours	7jours
Solution de Tween 1/10 saturée de Benzylthiothiazolidone	3,1	2,9	2,2	1,1	0
Témoin Tween 1/10	4	3,7	3,5	3,6	3,1
Témoin Knop	4,2	4,1	3,8	3,8	3,5

En aucun moment de notre expérience, nous n'avons observé de figure cytologique anormale.

b) Concentration de 10^{-6} M de Benzylthiothiazolidone dans une solution de Tween 80 au 1/10 g

A la concentration de 10^{-6} M, la Benzylthiothiazolidone n'agit qu'à partir de 3 jours d'expérience.

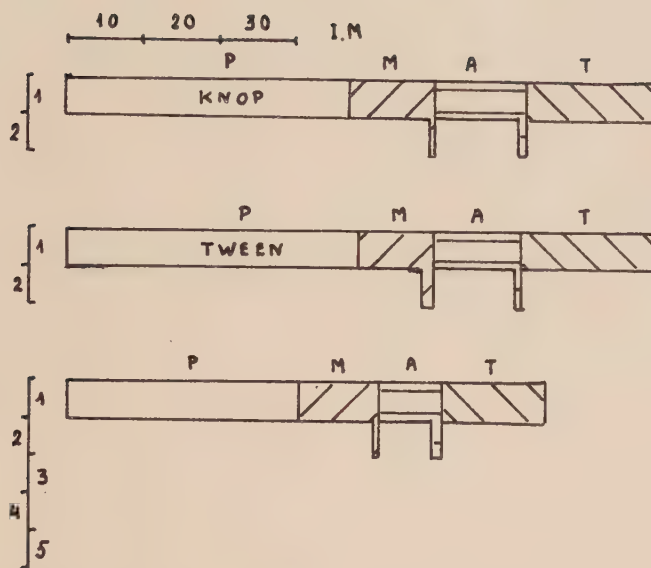
L'activité mitotique des méristèmes traités est normale après 24 heures (Index mitotiques de 93,4 et 91 %₂ contre 92 et 90,5 %₂ chez les témoins Tween 80 et contre 96,3 et 95 %₂ chez les témoins Knop).



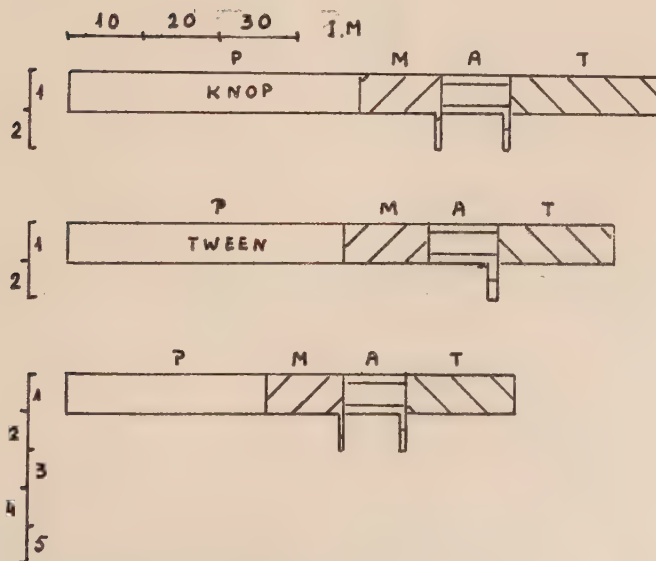
GRAPHIQUE 58 : (BENZYLTHIOTHIAZOLIDONE 10^{-6} M. + TWEEN 80 1/10 g.)
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 24 HEURES.

Une mito-dépression s'observe à partir de 3 jours de traitement : Index mitotiques de 63,1 et 62 %₂ contre 77,3 et 76 %₂ chez les témoins Tween 80 et contre 77,5 et 76,4 %₂ chez les témoins Knop au 3ème jour ; index mitotiques de 59,7 et 55,4 %₂ contre 74 et 72,7 %₂ chez les témoins Tween 80 et contre 78,1 et 76,1 %₂ chez les témoins Knop au 5ème jour.

Nous constatons qu'un blocage métaphasique se produit au 5ème jour de traitement : les métaphases représentent en effet 17 et 17,66 % des cinèses contre 12,33 et 11,66% chez les témoins Tweens.



GRAPHIQUE 59 : (BENZYLTHIOHIAZOLIDONE $10^{-6}M.$ + TWEEN 80 $1/10g.$)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 3 JOURS.



GRAPHIQUE 60 : (BENZYLTHIOHIAZOLIDONE $10^{-6}M.$ + TWEEN 80 $1/10g.$)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 5 JOURS.

De nombreuses mitoses s'observent encore le 7ème jour, mais nous notons l'apparition de très rares figures cytologiques anormales telles que des ponts chromosomiques et des fragmentations (3 à 4 au total par méristème).

La croissance des racines traitées n'est inhibée qu'à partir du 4ème jour et les nombres obtenus sont présentés dans ce tableau :

Moyenne des allongements en m/m en	4jours	5jours	6jours	7jours
Concentration de 10^{-6} M de Benzylthiothiazolidone dans la solution de Tween en 1/10 g	3,2	2,9	2,5	2,3
Témoin Tween au 1/10 g	3,7	3,5	3,6	3,1
Témoin Knop	4,1	3,8	3,8	3,5

c) Conclusions

A la suite de ces expériences, nous constatons que la Benzylthiothiazolidone possède une action mito-dépressive progressive tant sur le rythme de l'entrée en cinèse des cellules que sur la croissance des racines.

La concentration de 10^{-5} M agit après 24 heures de traitement et elle est assez toxique pour provoquer la mort des sujets au bout de 7 jours.

La concentration de 10^{-6} M n'agit qu'à partir de 3 jours d'expérience et nous observons qu'une action chromatoclasique - très faible par ailleurs - se révèle tardivement (au 7ème jour) : ce qui n'est pas obtenu avec la concentration de 10^{-5} M.

Les deux concentrations mises en oeuvre ont une action sur l'activité mitotique et bloquent en outre l'évolution des cinèses au stade métaphasique. Une action chromatoclasique - tardive et très faible - ne s'observe qu'avec la concentration de 10^{-6} M, (au 7ème jour).

52) 2-thio-diamino 4-6 pyrimidine

Nous constatons que la 2-thio-diamino 4-6 pyrimidine est soluble dans les adjuvants mis en oeuvre sauf dans de l'alcool éthylique. Les solutions obtenues ne donnent pas de précipité après leur dilution dans du liquide de Knop dilué au demi.

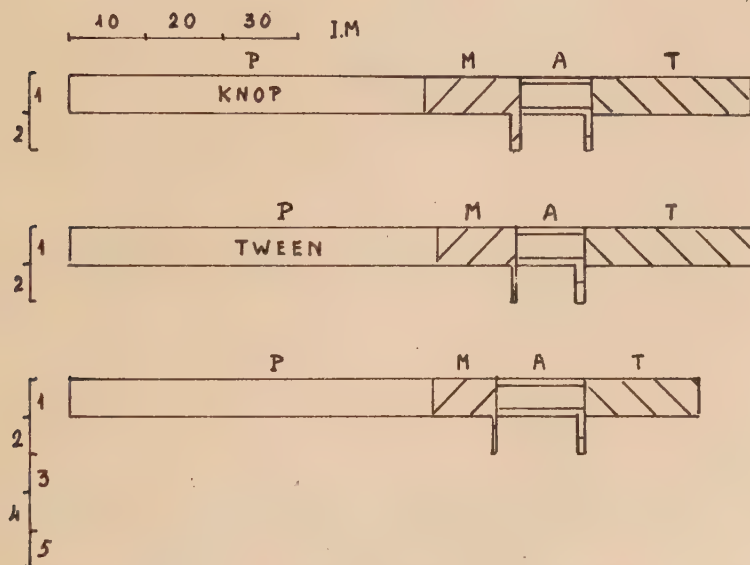
Le glycérol et le Tween 80 ont été retenus comme agents de solubilisation. Nous allons étudier comparativement l'activité de la 2-thio-diamino 4-6 pyrimidine (a u x

concentrations de 8.10^{-4} g et de 4.10^{-4} g) en solution d'une part dans du glycérol à 5 % g et d'autre part dans du Tween 80 à 1/10 g.

a) Concentration de 8.10^{-4} g de 2 thio diamino 4-6 pyrimidine dans une solution de Tween 80 à 1/10 g

La solution mise en oeuvre est très active.

Après 24 heures de traitement, nous obtenons des actions mito-dépressive, mitostatique légères et une action mitoclasique intense. En effet les index mitotiques sont de 83,4 et 80,5 % contre 91 et 90,8 % chez les témoins Tween 80 et contre 93,7 et 90,4 % chez les témoins Knop ; les télophases sont en diminution sensible (18,33 et 17,66 % des cinèses contre 24,66 et 23,33 % chez les témoins Tween 80), enfin l'action mitoclasique comporte la formation d'une quantité notable de cellules binucléées qui sont capables d'entrer en mitose à leur tour plus tard (194 cellules binucléées du total dans un méristème dont 44 à phragmoplaste incomplet). Nous rencontrons en plus quelques mitoses à chromosomes aberrants.

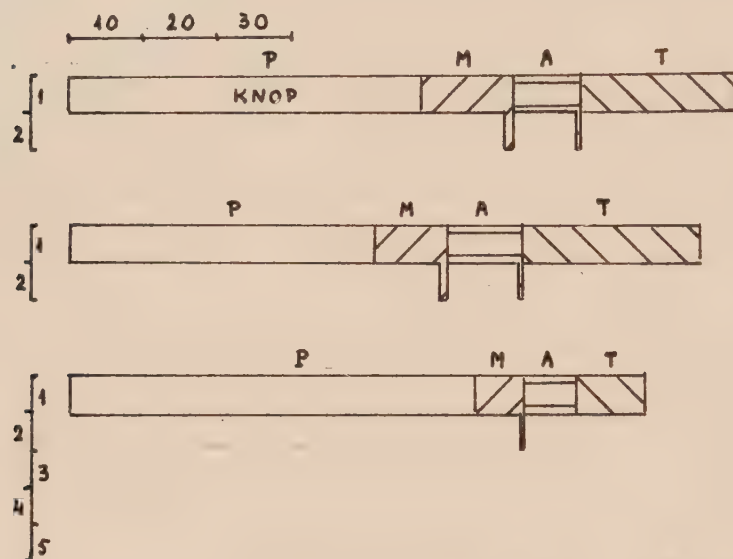


GRAPHIQUE 61 : (2 THIO DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE 8.10^{-4} g. + TWEEN 80 1/10g.)
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 24 HEURES.

Les mêmes anomalies sont observées après 48 heures d'expérience et nous obtenons des cellules binucléées en mitose.

L'action mito-dépressive de la 2 thio diamino 2-4 pyrimidine devient progressive. Après 3 jours de traitement les index mitotiques des méristèmes traités sont de

77 et 74,9 %₂ contre 85 et 84,7 %₂ chez les témoins Tween et contre 90 et 89,3 %₂ chez les témoins Knop. Nous observons une forte accumulation prophasique (71 et 69,66 % des cinèses contre 53 et 51,66 % chez les lots témoins Tween) et une nette diminution de télaphases (11,67 et 10,66 % des mitoses contre 24,66 et 23 % chez les témoins Tween). La numération totale des anomalies cytologiques dans un méristème nous fournit le nombre de 65 cellules binucléées (dont 35 en mitose et 13 à phragmoplaste incomplet) et 3 cellules polyploïdes en cinèse.



GRAPHIQUE 62 : (2 THIO DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE 8.10^{-4} + TWEEN 80 1/10 g.)
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 3 JOURS.

Au 4ème jour, les mitoses diminuent si fortement que nous avons recours à une numération totale et nous présentons les résultats obtenus dans le tableau suivant.

Nombre total de cinèses	Méristème I	Méristème II
	154	126
Prophases	115 dont 12 en voie de régres- sion.	92 dont 11 en voie de régres- sion.
Métaphases	12	10
Anaphases	11	8
Télaphases	10	8
Cellules binucléées en mitose	4	5
		./...

Nombre total de cinèses	Méristème I	Méristème II
	154	126
./ ... Cellules polyploïdes en mitose	2	3
Cellules binucléées au repos	37 dont 6 à phragmoplaste in- complet	46 dont 9 à phragmoplaste incomplet

Quelques mitoses s'observent encore dans les prélèvements de méristèmes a u x 5ème et 6ème jours mais disparaissent au 7ème jour. Nous signalons la présence de très rares hémicinèses (2 à 3 au maximum par méristème) dans les préparations du 5è jour.

La croissance des racines traitées diminue progressivement à partir de 3 jours de traitement et les allongements moyens déterminés sont présentés dans ce tableau

Moyenne des allongements en m/m en	4jours	5jours	6jours	7jours
Concentration de 8.10^{-4} g de 2 thio diaminc 4-6 pyrimidine	3,3	2,7	1,8	1
Témoins Tween 1/10 g	4	3,4	3,1	3
Témoins Knop	4,2	3,8	3,5	3,6

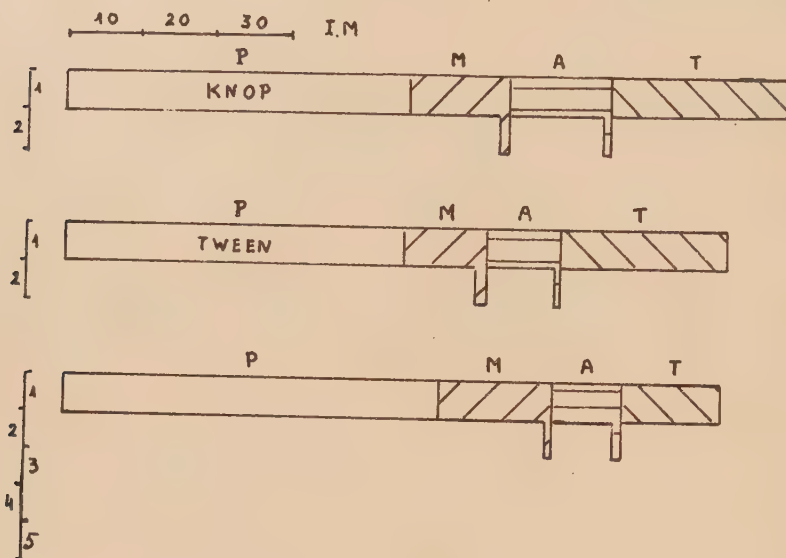
b) Concentration de 4.10^{-4} g de 2 thio diamino 4-6 pyrimidine dans u n e solution de Tween 80 à 1/10 g.

A la concentration étudiée, seules une légère action mito-dépressive et u n e action mitostatique sont observées. Nous n'avons pas retrouvé l'action mitoclasique signalée précédemment.

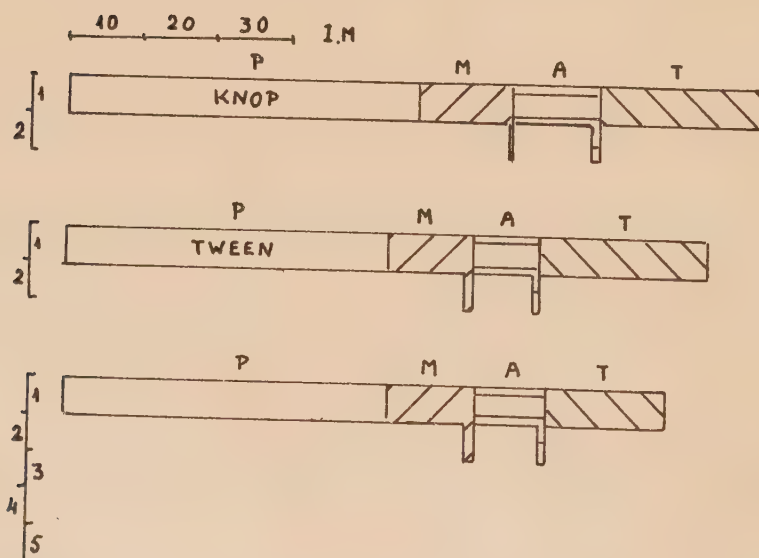
L'activité mitotique des méristèmes est normale pendant 48 heures de traitement (Index mitotiques de 90,4 et 88 %₀ contre 94 et 92,9 %₀ chez les témoins Tween e t contre 96,5 et 95 %₀ chez les témoins Knop).

Une légère diminution du nombre de cellules en mitoses est obtenue à partir de 4 jours d'expérience : Index mitotiques de 80 et 77,8 %₀ contre 89 et 88,2 %₀ chez

les témoins Tween et contre 92,4 et 91,1 chez les témoins Knop, au bout de 4 jours de traitement; index mitotiques de 73 et 71,3 ‰ contre 85,6 et 84,3 ‰ chez les témoins Tween et contre 89,1 et 88,2 ‰ chez les témoins Knop au bout de 6 jours. Nous notons dans les méristèmes prélevés après 6 jours de traitement la présence de quelques mé-



GRAPHIQUE 63 : (2 THIO-DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE $4 \cdot 10^{-4}$ + TWEEN 80 $1/10$ g.)
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 48 HEURES.



GRAPHIQUE 64 : (2 THIO-DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE $4 \cdot 10^{-4}$ + TWEEN 80 $1/10$ g.)
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 4 JOURS.

taphases désorganisées, une accumulation prophasique (66 et 64,33 % des cinèses contre 48 et 46,66 % chez les témoins Tween) et une diminution sensible des télophases (13 et 11,3 % des cinèses contre 22,66 et 21,66 chez les témoins Tween).

La croissance des racines traitées n'est ralentie qu'à partir du 4ème jour et nous notons encore des allongements au 7ème jour.

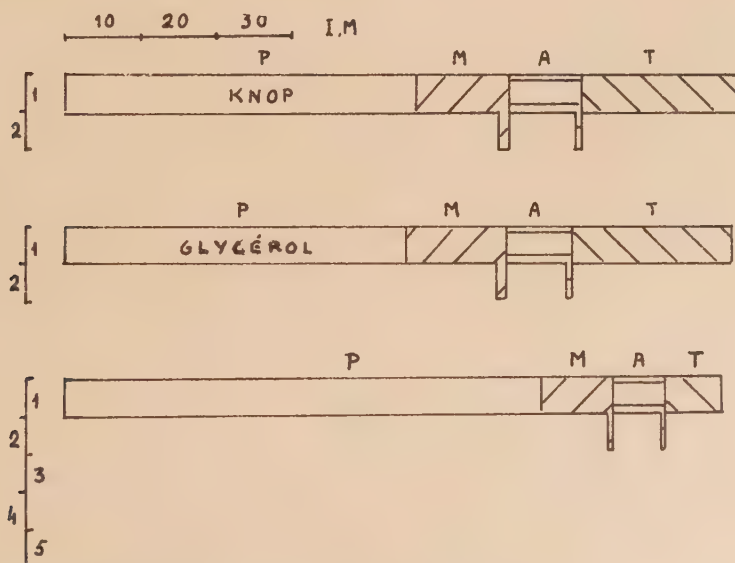
c) Conclusions

La 2 thio diamino 4-6 pyrimidine exerce une action antimitotique certaine (mito-dépressive et mitostatique) aux concentrations mises en oeuvre, mais à la concentration de 8.10^{-4} g nous obtenons, en outre, une action mitoclasique portant sur la formation du phragmoplaste.

d) Concentration de 8.10^{-4} g de 2 thio diamino 4-6 pyrimidine dans une solution de glycérol à 5 % g

A cette concentration, nous avons un début de saturation car quelques cristaux du produit se déposent.

L'activité mitotique des cellules méristématiques traitées est normale après 24 heures (Index mitotiques de 87,2 et 86,1 ‰ contre 88,6 et 86,5 ‰ chez les témoins glycérol et contre 90 et 89,3 ‰ chez les témoins Knop) ; nous notons déjà une forte accumulation prophasique (72,33 et 71 % des cinèses contre 47,77 et 47,33 % chez les témoins glycérol), une diminution du nombre de télophases (8,67 et 10,33 % des cinèses



GRAPHIQUE 65 : (2 THIO DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE 8.10^{-4} g + GLYCÉROL 5% g)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 24 HEURES.

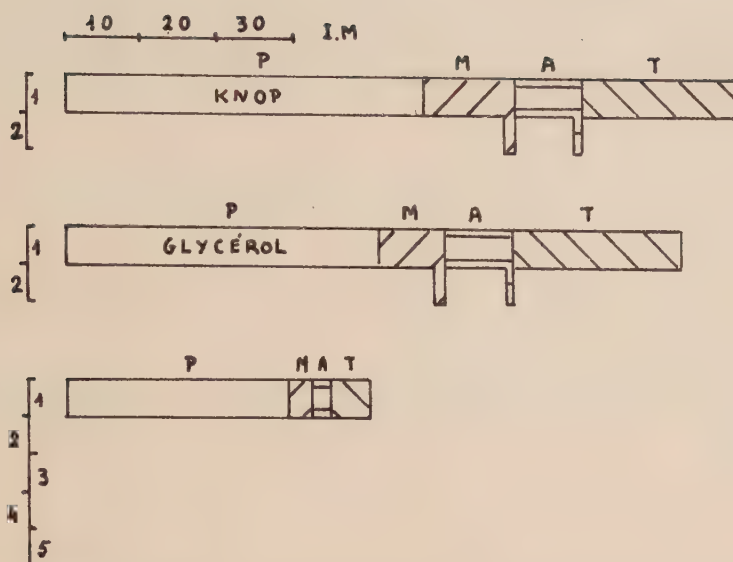
contre 24,33 et 22,58 % chez les témoins glycérol) et enfin une action inhibitrice du fonctionnement du phragmoplaste (137 cellules binucléées dans un méristème dont 38 à cloisonnement partiel). Nous signalons aussi la présence de quelques rares mitoses à chromosomes aberrants.

Ces anomalies se retrouvent chez les méristèmes prélevés après un traitement de 48 heures mais nous observons en plus la présence de quelques cellules binucléées en mitose. A partir de ce moment, nous signalons l'intervention d'une légère action mitotico-dépressive due au glycérol (voir page 61). Cependant, nous pouvons poursuivre cette expérience jusqu'à 4 jours à la condition de tenir compte de l'action propre du solvant.

Après 3 jours, le nombre de mitoses est en diminution sensible (Index mitotiques de 40,1 et 38,2 %₂ contre 83,2 et 81,8 %₂ chez les témoins glycérol et contre 90 et 89,7 %₂ chez les témoins Knop). Les prophases représentent la majeure partie des mitoses numérées (72,9 et 71,66 % des cinèses contre 48,33 et 47,66 % chez les témoins glycérol) et les télophases sont toujours en faible proportion (12,6 et 10 % des cinèses contre 24,33 et 23,56 % chez les témoins glycérol). Une numération totale des anomalies cytologiques dans un méristème nous fournit des résultats suivants.

Cellules binucléées en mitose	8
Cellules binucléées au repos	107 dont 26 à phragmoplaste incomplet
Cellules trinucélées	2

./ ...



GRAPHIQUE 66 : (2 THIO DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE $8.10^{-4}\%$. + GLYCÉROL 5% .)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS . 3 JOURS .

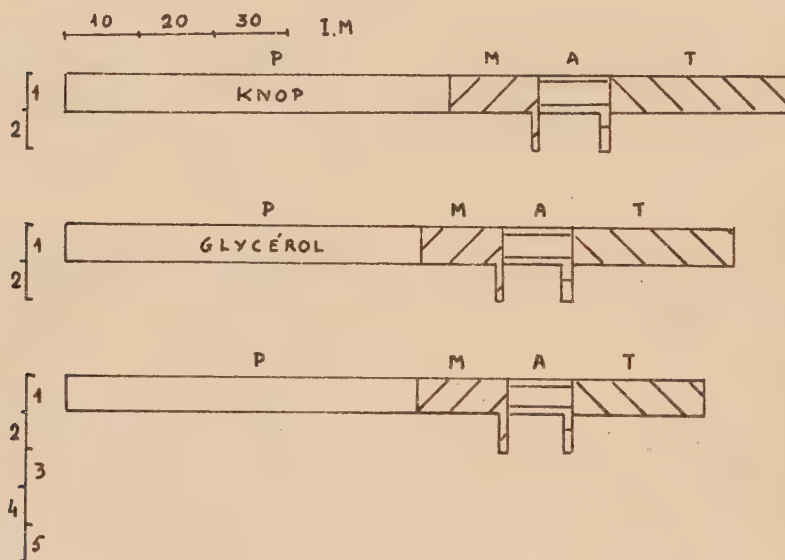
Au bout de 4 jours de traitement, l'action mito-dépressive de la solution mise en oeuvre est telle que nous devons avoir recours à une numération totale.

Nombre total de cinèses	Méristème I	Méristème II
	34	18
Prophases	26 dont 8 en voie de régression	16 dont 6 en voie de régression
Métaphases	0	0
Stathmométaphases	3	0
Anaphases	1	0
Télophases	4	2
Cellules binucléées au repos	162 dont 44 à phragmoplaste partiel.	
Cellules trinucélées	9	
Cellules tétranucléées	4	

La croissance des racines soumises à l'expérience est ralentie à partir du 3ème jour pour s'arrêter au 5ème jour : moyenne de 2,5 mm contre 4,4 mm chez les témoins glycérol et contre 4,6 mm chez les témoins Knop le 3ème jour et moyenne de 1,3 mm contre 4,3 mm chez les témoins glycérol le 4ème jour et moyenne de 0,2 mm contre 4 mm le 5ème jour.

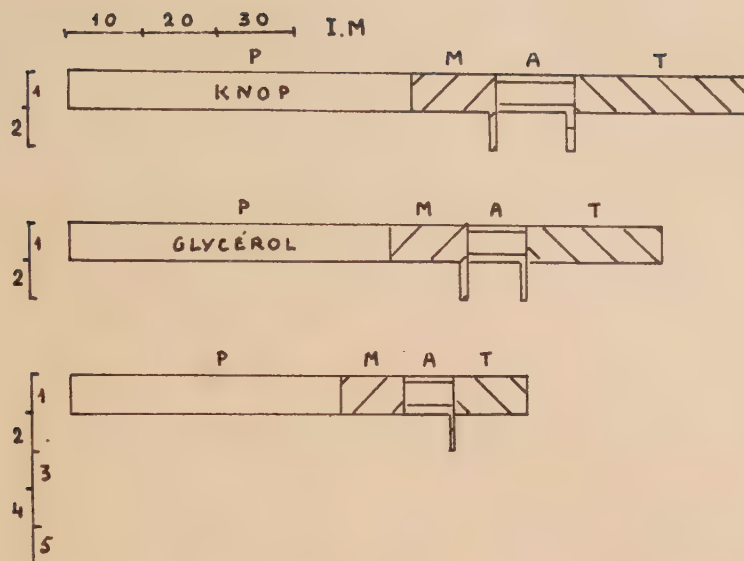
e) Concentration de 4.10^{-4} g de 2 thio diamino 4-6 pyrimidine dans une solution de glycérol à 5 % g

Après 2 jours, l'activité mitotique des sujets traités est encore intense (Index mitotiques de 90,1 et 87,2 ‰ contre 89,6 et 88,5 ‰ chez les témoins glycérol & contre 97 et 94,2 ‰ chez les témoins Knop). Mais nous constatons la présence de quelques rares cinèses à chromosomes aberrants et une légère diminution du stade télophasique (20 et 18 % des cinèses contre 23,34 et 23 % chez les témoins glycérol).



GRAPHIQUE 67 : (2 THIO DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE 4.10^{-4} g + GLYCÉROL 5% g.)
AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 48 HEURES.

L'action mito-dépressive de la 2 thio diamino 4-6 pyrimidine se manifeste à partir de ce moment et après 4 jours d'expérience les index mitotiques ne sont plus que de 60,9 et 59,3 ‰ contre 85,8 et 78,9 ‰ chez les témoins glycérol et contre 93,3 et 90,6 ‰ chez les témoins Knop. Nous notons une légère tendance à l'accumulation prophasique, une nette diminution de télophases (17 et 16 % de cinèses contre 23,66 et 22,34 % chez les témoins glycérol), la présence de quelques mitoses à chromosomes aberrants et surtout l'apparition des cellules binucléées (10 à 12 par méristème au maximum).



GRAPHIQUE 68 : (2THIO DIAMINO 4-6 PYRIMIDINE $4.10^{-4}g$ + GLYCÉROL 5% g.)
 AU DESSUS : TÉMOINS CORRESPONDANTS. 4 JOURS.

Les jours suivants, nous observons les mêmes anomalies et une diminution sensible de mitoses : diminution due à l'action mito-dépressive de la 2 thio diamino 4-6 pyrimidine d'une part, et du glycérol d'autre part (cf. page 61).

La croissance des racines n'est pas perturbée pendant 4 jours mais à partir de ce moment l'allongement moyen reste nettement inférieur à celui des témoins glycérol.

f) Conclusions générales

A la suite de ces travaux, nous constatons que la 2 thio diamino 4-6 pyrimidine, solubilisée soit dans le Tween 80, soit dans le glycérol, possède une activité analogue sur les racines d'Ail.

A la concentration de $8.10^{-4}g$, nous observons que, solubilisée dans une solution de glycérol à 5 % g, la 2 thio diamino 4-6 pyrimidine exerce une action plus intense et plus précoce que solubilisée dans une solution de Tween 80 à 1/10 g. Quoiqu'il en soit, nous obtenons dans les cas des actions identiques du produit : action mito-dépressive, action mitostatique et action mitoclasique intense portant surtout sur le cloisonnement cellulaire. Nous notons, dans le cas du solvant Tween 80, la présence de très rares cellules polyploïdes en mitose.

A la concentration de $4.10^{-4}g$, une différence d'intensité d'action est obtenue ; alors que solubilisée dans une solution de Tween 80, la 2 thio diamino 4-6 pyrimidine

n'exerce qu'une action antimitotique seulement, solubilisée dans une solution de glycérol, elle nous révèle à côté d'une action antimitotique une action mitoclasique légère et tardive.

A quoi est due cette différence de degré d'action ? Est-ce que le Tween 80 provoque une détoxification partielle de la 2 thio diamino 4-6 pyrimidine ? Est-ce que le glycérol exalte l'activité du produit ? En tous les cas cette différence doit-être évidemment rapportée au mode de solubilisation-différents dans les deux cas.

Conclusions

Les résultats obtenus dans cette série d'expériences nous permettent de tirer des conclusions suivantes :

1. Du fait de son insolubilité, la théobromine n'a pu être étudiée.
2. La mercaptopurine est solubilisée par l'éthylène-glycol, par le propylène-glycol et par le glycérol. Mais les solutions ainsi obtenues précipitent dès l'addition du liquide de Knop dilué au demi ou de l'eau. Elle est insoluble dans les solutions concentrées de mouillants. Son étude est abandonnée.
3. La colchimidazole-colchaminone est soluble dans l'éthylène-glycol, dans le propylène-glycol et dans le "Céquartyl A". Elle est soluble dans le glycérol mais difficilement et elle donne rapidement des solutions saturées avec le Tween 80 et le laurylsulfonate de sodium.

Par manque de produit nous n'avons pas pu obtenir des résultats probants.

4. La Benzylthiothiazolidone est soluble dans l'éthylène-glycol, dans le Tween 80, dans le propylène-glycol (mais difficilement) et dans le "Céquartyl A." Mais la solution obtenue à l'aide du Céquartyl A précipite après refroidissement. Ce produit est très peu soluble dans le glycérol et est insoluble dans le laurylsulfonate de sodium.

Les expériences, menées avec des concentrations de 10^{-5} M et de 10^{-6} M dans une solution de Tween à 1/10 g, montrent que la Benzylthiothiazolidone possède une action mito-dépressive et bloque les cinèses au stade métaphasique. Une très faible action chromatoclasique (ponts et fragmentations chromosomiques) n'est obtenue qu'après 7 jours de traitement à la concentration 10^{-6} M.

5. La 2 thio diamino 4-6 pyrimidine est soluble dans tous les solvants étudiés par nous sauf dans de l'alcool éthylique.

La 2 thio diamino 4-6 pyrimidine possède une action antimitotique et une action mitoclasique intense à la concentration de 8.10^{-4} g, que ce soit en solution dans du Tween 80 ou dans du glycérol.

A la concentration de 4.10^{-4} g, des résultats différents sont obtenus selon le solvant employé : Tween 80 ou glycérol. En tous les cas, ce produit exerce encore une action antimitotique mais seule l'action mitoclasique -- légère il est vrai -- est obtenue avec le solvant glycérol au bout de 4 jours d'expérience.

o

o o

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS GENERALES

En commençant ce travail, nous nous étions posé le problème suivant : l'étude de l'action d'une substance sur la cellule étant souvent rendue difficile ou impossible du fait de son insolubilité, serait-il possible d'augmenter cette solubilité par addition d'un adjuvant n'exerçant pas par lui-même d'action toxique dans les conditions de nos expériences ?

Une étude bibliographique nous a conduit à penser que, parmi les agents utilisables, se trouvent, d'une part certains alcools et polyols (voir chapitre III page 20), d'autre part les agents mouillants (voir chapitre page).

Nous avons donc étudié successivement certains représentants de ces deux catégories de substances :

Parmi les alcools, nous avons retenu l'alcool éthylique, l'éthylène-glycol, 1^e propylène-glycol ; nous avons étudié l'action qu'exercent ces corps sur la cellule végétale et déterminé dans chaque cas les concentrations-limites pouvant être mises en oeuvre sans provoquer d'intoxication cellulaire.

L'alcool éthylique exerce une action mito-dépressive marquée et que dans certaines conditions (concentration de 2 % en volume) on observe une légère altération du fuseau de caryocinèse.

Nous avons conclu qu'il est possible d'utiliser l'alcool éthylique comme adjuvant à la concentration de 0,5 % en volume pendant 48 heures et à la concentration de 1 % en volume pendant une durée inférieure à 24 heures et à la condition de tenir compte de l'action mito-dépressive propre de ce corps.

L'éthylène-glycol possède une toxicité forte à la concentration de $2 \cdot 10^{-3}$ M. On observe dans ces conditions des actions mitoclasiques et chromatoclasiques modérées. Aux concentrations inférieures à 10^{-3} M, ce corps est encore actif et nos résultats concordent en gros avec ceux obtenus par G. Ostergren. Nous avons conclu que l'éthylène-glycol peut être employé comme agent de solubilisation à la concentration de $5 \cdot 10^{-4}$ M. pendant une durée limite de 3 jours.

Le propylène-glycol présente une activité intense vis à vis des mitoses, des actions mitoclasique et chromatoclasique aux fortes concentrations. Nous avons remarqué que la toxicité de ce corps est supérieure à celle de l'éthylène-glycol. Cependant le propylène-glycol peut être employé à la concentration de $5 \cdot 10^{-4}$ M. pendant une période de 3 jours au maximum.

Le glycérol possède une certaine action mitoclasique mais dans des conditions très voisines des conditions léthales. Aux autres concentrations, nous notons seulement une action mito-dépressive, légère et progressive. Le glycérol peut-être utilisé à la concentration de 5 % g pendant 48 heures ou pendant une durée plus longue (4 jours au maximum) à la condition de tenir compte de son action propre sur les mitoses.

Nous avons ensuite étudié les agents mouillants et, après une brève revue de leurs propriétés, nous avons choisi un représentant de chacune des trois catégories de ces substances, le Tween 80, mouillant non ionique, le laurylsulfonate de sodium, mouillant anionique, et le Céquartyl A, mouillant cationique.

Le Tween 80 est d'une toxicité pratiquement nulle et peut-être utilisé comme agent de solubilisation à la concentration de 1/10 g pendant plusieurs jours.

Le Laurylsulfonate de sodium est doué d'une toxicité assez grande à partir de la concentration-seuil de $3 \cdot 10^{-4}$ g. Son action est uniquement mito-dépressive. Nous pouvons l'utiliser à la concentration de $2 \cdot 10^{-4}$ g même pour un traitement de longue durée.

Le "Céquartyl A" est très toxique et son action se porte presque exclusivement sur l'activité mitotique des cellules, à part une action mitoclasique, peu nette, aux concentrations de 10^{-5} et de $5 \cdot 10^{-5}$ g. Nous avons conclu qu'il est possible d'utiliser ce mouillant comme adjuvant, à la concentration de 10^{-7} g pour une expérience de longue durée ou à la concentration de 10^{-6} g pendant une période inférieure à 48 heures.

Certains auteurs (E. Neuzil) ayant signalé que l'association de certains mouillants était susceptible de diminuer la toxicité des constituants du mélange, nous avons réalisé certaines expériences pour étudier ce problème à l'échelle cellulaire. Nous avons étudié l'action des associations de Tween 80 avec le laurylsulfonate de sodium d'une part et avec le Céquartyl A d'autre part. Nous sommes amenés à constater que l'addition d'une solution de Tween 80, à une concentration convenable diminue notablement la toxicité de ces mouillants ionisés.

Ayant ainsi montré qu'il est possible d'utiliser divers agents de solubilisation dans les expériences de pharmacodynamie cellulaire effectuées sur du matériel végétal, nous avons essayé d'appliquer les résultats, que nous avons obtenus, à l'étude de certains composés qui avaient été antérieurement trouvés inactifs du fait de leur insolubilité.

Dans certains cas (Théobromine - Mercaptopurine - Colchimidazole - Colchaminone) nous n'avons pu obtenir des résultats positifs pour des raisons variées ; dans d'autres, l'addition de certains adjuvants nous a permis d'observer une activité spécifique sur la cellule (Benzylthiothiazolidone - 2 thio diamino 4-6 pyrimidine).

Dans un cas particulier (2 thio diamino 4-6 pyrimidine) nous avons comparé l'activité de solutions de même concentration obtenues à l'aide du Tween 80 d'une part et de glycérol d'autre part. Nous avons constaté des différences que l'on doit évidemment rapporter au mode de solubilisation, différent dans les deux cas (voir page).

Cette étude soulève évidemment de nombreux problèmes tels que celui du mode de solubilisation des substances sous l'influence de chaque adjuvant, de l'influence de l'adjuvant sur la rapidité de pénétration dans la cellule ; nous n'avons pu, dans ce travail, qu'aborder certains d'entre eux et nous espérons avoir la possibilité de continuer cette étude dans l'avenir.

Tel quel ce travail constitue une contribution à l'étude des agents de solubilisation en Pharmacodynamie cellulaire et nous espérons que les techniques que nous avons mises au point pourront être utilisées avec profit dans de nombreuses recherches.

2

2 2

BIBLIOGRAPHIE

- I ADAM N et STEVENSON D.G.
Action détersive.
Endeavour - Janvier 1953.
- 2 AISENBERG
Bull. Histol. Appl. 1936 13 p. 265
- 3 ALLAWALA N.A. et S. RIEGELMAN
Libération des médicaments antimicrobiens à partir des solutions renfermant des agents tensio-actifs.
JAPA Sc. ed. Mai 1953 XLII n° 5 p. 267.
- 4 AMATO F (d')
The effect of colchicine and ethylene-glycol on sticky chromosomes in Allium cepa.
Hereditas, 1948 34 p. 83-103.
- 5 BARTHELMESS A.
Chemisch induzierte multipolare mitosen.
Protoplasma 1957 48 p. 546-561.
- 6 BER A. et Z. MOSKWA
The influence of organic solvents on the growth of Plants.
Experientia 1951 7 p. 136-137.
- 7 BLANPIN O-M.
Contribution à l'étude de l'influence des mouillants sur l'activité des anesthésiques locaux.
Thèse Doct. Pharmacie Etat Paris 1955.
- 8 BUVAT R. et H. TUCHMANN-DUPLESSIS
Action de la colchicine et de quelques substances réputées toxiques sur la cellule vivante
C.R.Ac.Sc. 1947 224
- 9 CARPENTIER S. et A. PACCAUD
Action mitoclasique de quelques carbures cycliques. Relations entre cette action et l'aromaticité des carbures.
Rev. Cytol. et biol. Végét. 1949 II
- 10 CHARONNAT R. et P. LECHAT
Confrontation entre les règles de prévision du pouvoir anesthésique local et les faits d'un cas simple : la procaine et son amide.
Ann. Pharm. Fr. Tome XII n° 1 1954.
- 11 CIER A. B. DREVON et M. FAURE
Action des substances tensio-actives sur la pénétration des médicaments à un niveau de la cornée.
Bull. Trav. de Sté Pharm. Lyon 1957 Tome I n° I.

- 12 CORNMAN I.
The effects of ether upon development of *Drosophila melanogaster*.
Physiological Zoology 1944 17 p. 367-377.
- 13 CORRADO R. et B. RUFFO
Some non ionic surface active compounds of different hydrophilities
Ann. Chem. 1951 41 p. 534.
- 14 CRAVERI
L'effecto dei solventi organic nei methodi de saggio degli anti-biotici
Rev. Biol. Italia 1956 48.
- 15 DASTUGUE G. et BOULONNAIS M.
Sur la toxicité comparée et le mécanisme d'action des agents tensio-actifs
sur les larves de Batraciens.
Thérapie Tome VIII 1953.
- 16 DASTUGUE G. et BOULONNAIS M.
Contribution à l'étude de la narcose en présence d'agents tensio-actifs chez
les animaux aquatiques.
Ann. Pharm. françaises Tome XI n° 7-8 1953.
- 17 DELARGE L.
Cultures de méristèmes radiculaires in vitro ; leurs variations individuelles
et leur signification physiologique.
Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. 71 Fasc. I 1938-1939.
- 18 DELARGE L.
Cultures de méristèmes radiculaires in vitro ; les milieux réputés complets et
les variations individuelles.
Bull. Soc. Roy. Bot. Belg. 71 Fasc. 2 1938-1939.
- 19 DELARGE L.
Etude de la croissance et de la ramification des racines in vitro.
Arch. Bot. Liège 17 1944.
- 20 DERVICHIAN D.G. et LACHAMPT F.
Structure et rôle des mouillants.
Bull. Soc. Chim. 3-4 1951.
- 21 DEYSSON G.
Contribution à l'étude du "syndrome mitoclasique"
Thèse Doct. Pharm. Etat Paris 1948.
- 22 DEYSSON G.
Recherches sur la perméabilité des cellules végétales.
Thèse Doct. Sciences naturelles Paris 1951.
- 23 DEYSSON G. (MASCRE M. et)
Poisons mitotiques.
Biol. Medic. XL n° 5 1951.
- 24 DUHAMET L.
Recherches sur l'action de l'hétéro-auxine et de la colchicine sur croissance
des racines isolées de *Lupinus albus*.
Rev. Cytol. et Cytophysiol. Végét. 8 1945.

- 25 DUNN C.C.
Antiseptic and germicidal properties of a mixture of high molecular Alkyl-dimethyl-benzyl-ammonium chlorides.
Amer. J. Hyg. 26 1937.
- 26 DUNN C.C.
Fungicidal properties of Alkyl-dimethyl-benzyl-ammonium chlorides.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 37 1938.
- 27 ENGLER VL.
Influence des substances actives sur la cellule végétale. Applications pharmaceutiques.
Thèse Fac. Sciences. Université Genève n° 1149 1950.
- 28 FAIR G.M., CHANG S.L. TAYLOR M.P. et WINNEMAN.
Destruction of water born cysts of Entamoeba histolytica by synthetic detergents
Amer.J. Publ. Health. 35 1945.
- 29 FRIEDMANN E. et SIMON-REUSS I.
The use of solvents in tissue cultures.
Experientia 7 1951.
- 30 GAVAUDAN P.
Remarques sur la classification des anomalies de la caryocinèse et la correspondance entre les degrés d'anomalies et les doses actives de substances inhibitrices.
Rec. Trav. Sc. de la Station d'essais du Bouchet (Trav. de Toxic. et Pharm. cell.) I p. 49-53 1941.
- 31 GAVAUDAN P.
Etude quantitative de l'action mito-inhibitrice des substances aromatiques : définition et terminologie des effets cytologiques utilisés comme test.
C.R. Soc. Biol. 137 p. 281 1943.
- 32 GAVAUDAN P.
Pharmacodynamie de l'inhibition de la caryocinèse.
Thèse Doct. Pharm. Etat Paris 1945.
- 33 GAVAUDAN P. et GAVAUDAN N.
Analogie entre les effets exercés sur la caryocinèse et la cytodierèse végétales par le chloroforme et les substances aromatiques.
C.R. Soc. Biol. 137 p. 509-611 1943.
- 34 GEIGER-HUBER H. et BURLET E.
Ueber den hormonalen Einfluss der - indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in Keimfreier Organkultur.
Jahrb. wiss. Bot. 84 1936.
- 35 GUINOCHET M.
Observations et réflexions sur l'action de la colchicine sur les cellules végétales.
Bull. Hist. Appl. 48 1941.

- 36 HAECKER V.
Mitosen im Gefolge amitosenähnlicher Vorgänge.
Anat. Anzeig. 17 p.9-20 1900.
- 37 HEINEMAN P.G.
Antiseptic properties of Alkyl-dimethyl-benzyl-ammonium chloride
J. Amer. Pharm. Assoc. Sc. Ed. 26 1937.
- 38 HERRMANN H., LUBCHENCO L.O., ROTHFELS U.
Toxicity of non ionic detergents for the chick embryo.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82 1953.
- 39 HORNUNG H.
Zephirol, in neues desinfektions mittel.
Z. Immunitats forsch 84 1935.
- 40 JOWDY A.W
Spans and Tweens in pharmaceutical formulations.
Carolina Journ. Pharm. 33 p. 465 1952.
- 41 KESSEL J.F. et MOORE J.F.
Emergency sterilisation of drinking water with heterepolar cationic antiseptics. I. Effectiveness against cysts of Entamoeba hystolyca.
Amer. J. Trop. Med. 26 1946.
- 42 KIDDER G.W., DEWEY V.C. et HEINRICH H.R.
The effect of non ionic detergents on the growth of Tetrahymena.
Exp. Cell. Research 7 1954.
- 43 KLEIN M., KALTER S.S. et MUDD S.
The action of synthetic detergents upon certain strains of bacteriophage and virus.
J. Exp. Med. 79 1944.
- 44 KLEVENS H.B.
Solubilization.
Chemical Reviews 47 1950.
- 45 KNIGHT C.A. et STANLEY W.M.
The effect of some chemicals on purified influenza virus.
J. Exp. Med. 79 1944.
- 46 KRANZ H.
Zeits f.Zellf.u.mikr. Anat. 28 p. 1938.
- 47 LA COUR L.
Acetic-orcein : a new stain-fixative for chromosomes.
Stain techn. 16 1941.
- 48 LAMARDELLE P.
Les relations entre les nucléoles et les chromosomes au cours du ralentissement de la prophase provoqué par quelques agents chimiques.
C.R. Ac. Sc. 231 1950.

- 49 LAWRENCE C.
A quaternary ammonium compound of high germicidal activity.
Acta. Med. Orientalis 5 1946.
- 50 LEPESCHKIN
The effect of ethyl alcohol on the turgor pressure of *Spirogyra*.
Amer. J. Bot. 15 1928.
- 51 LEVAN A. et OSTERGREN G.
The mechanism of c-mitotic action. Observations on the naphtalene series.
Hereditas XXIII 1943.
- 52 LEVAN A. et SANDWALL C.
Quantitative investigations on the reaction of yeast to certain biologically active substances.
Hereditas XXIX 1943.
- 53 LUYET B.J. et GONZALES F.
Protective action of glycerol against freezing injury in embryonic tissues of chick.
Biodynamica 7 p. 101-106 1957.
- 54 MAC BAIN J.W.
Advance in colloid science.
Intersc. Publish. Inc. New-York Vol. I 1942.
- 55 MAC BAIN J.W.
Frontiers in colloid chemistry.
Intersc. Publish. Inc. New-York Vol. III 1950.
- 56 MAINX F.
Über Kuntliche Beeinflüssing des Kemsteilungs vorgangs.
Ber d. dent. Bot. ges. 41 p. 352-354 1923.
- 57 MANGENOT G. et CARPENTIER S.
Le syndrome mitoclasique .
C.R. Soc. Biol. 138 1944.
- 58 MEDES Gr et MAC CLENDON J.F.
Effect of anesthetics on various cell activities.
J. of Biol. Chem. 42 p. 541-568 1920.
- 59 MEITES M.
Action de l'eau et du benzène sur la structure de la cellule végétale
(Contribution à l'étude physiologique et chimique de la cellule)
Thèse Doct. ès Sc. nat. Montpellier 1944.
- 60 MEYER F.O.W
Préparation d'huiles sulfonées ; leur usage et leur détermination dans les préparations pharmaceutiques, cosmétiques et similaires.
J. of Pharmacol. 61 1937.
- 61 MIRIMANOFF A.
Le comportement de la cellule végétale en présence des toxiques additionnés de substances tensio-actives.
Protoplasma 42 1953.

- 62 MIRIMANOFF A. et AUDREY A.
Effet toxique du Laurylsulfate de sodium sur la cellule végétale.
Pharm. Acta Helvet. n° 4 1957.
- 63 MIROSCHNICHENCO
Dokl. Akad. Nauk. SSSR. 60 (en russe).
- 64 MOELLENDORFF W. Von
Zur Kenntnis der Mitose II. Die Phasenverteilung in der Fibrozytenkultur
und deren Abwandlung durch Substanzzusätze.
Zeitsf. Zellforsch 27 1938.
- 65 NEMEC
Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologischen Fragen.
Berlin , 1910.
- 66 NEUZIL E.
Contribution expérimentale à l'étude des propriétés physico-chimiques et
biologiques de substances superficiellement actives non ionisées.
Thèse Doct. Sc. Nat. Bordeaux 1952.
- 67 NIVEN William W.
Fundamentals of detergency.
Reinhol Publis. Corporation 1950.
- 68 OSTERGREN G.
Colchicine-mitosis, chromosome contraction, narcosis and protein' chain
folding.
Hereditas 30 1944. p. 429-467.
- 69 OSTERGREN G.
An efficient chemical for the induction of sticky chromosomes.
Hereditas 30 1944. p. 213-216.
- 70 OSTERHOUT W.J.
Reversible clotting in Spirogyra.
Biol. Bull. 107 1954.
- 71 PARKER R. , MORGAN J.F., MORTON H.J.
Nutrition of animals cells in tissu culture III. Effect of ethyl - alcohol
on cell survival and multiplication.
Journ. Cell. Comp: Physiol. 36 1950.
- 72 POLONOVSKI J. , MACHEBOEUF J.
Action des savons à cation actif sur les protéines.
Ann. Institut Pasteur Paris 74 1948.
- 73 POLOWZOV W.
Arch.f.mikr.Anat.u.Entw.Hsch. 98 1923.
- 74 POUSSSEL H.
Remarques générales sur le mécanisme de l'action toxique des alcools. Rec.
des Travaux Sc. de la Station d'essais du Bouchet (Trav. de Toxic. et de
Pharmaco.cellul.) I 1945 p. 25-39.

- 75 QUEVAUVILLER et BLANPIN O-M.
L'activité anesthésique locale de surface du Chlorhydrate de cocaïne est inhibée par certains mouillants non ioniques (Tweens).
Ann. Pharm. Fr. 12 1954.
- 76 ROLLEN A.
Rôle de l'acide chlorhydrique dans les colorations par l'orcéine acétique.
Bull. Soc. Bot. fr. 96 1949 p.110.
- 77 ROLLEN A.
Action de l'alcool octylique primaire (octanol) sur le noyau et le chondriome des méristèmes radiculaires de l'*Allium cepa* L.
Ann. Pharm. Fr. XII 1954.
- 78 ROLLEN A.
Action de l'alcoolisoamylique sur la division cellulaire chez l'*Allium cepa* L.
Bull. Soc. Bot. Fr. 104 1957.
- 79 RONDEAU du NOYER M.
Nouveau lut pour préparations microscopiques.
C.R. Soc. Biol. 81 1918.
- 80 ROSENFELD M.
The action of ether on cells in mitosis.
Arch.f.Exp. Zellforsch 12 1932.
- 81 SCHILLER J.
Arch.f. Entw. Mechan. 27 1909 (cité d'après P. GAVAUDAN (32)).
- 82 SENTEIN
Les actions mitoclasiques chez quelques vertébrés.
C.R. Soc. Biol. 139 1945.
- 83 SENTEIN
Action du benzène et de quelques phénols sur la segmentation de l'oeuf de Triton.
Bull. Assoc. Anatom. 85 1955.
- 84 SHELANSKI H.A.
Toxicity of quaternaries.
Soap and Sanitary chemicals 25 (2) 1949.
- 85 SIVADJIAN J.
Action du glycérol sur la transpiration des feuilles et sur la perméabilité cuticulaire.
C.R.Ac. Sc. 1956 p. 242.
- 86 SNEIDER G.
Untersuchungen uber das desinfections mittel Zephirol.
Z. Immunit. Forsch. 85 1935.
- 87 SPEEL H.C.
Surface active agents chemical types and applications.
J. Invest. Dermat. 6 1945.

- 88 STEEN A.S.
Action of living cells on cortisone acetate crystals.
Nature 168 1951.
- 89 STEINEGGER E., LEVAN A.
The cytological effect of chloroform and colchicine on Allium.
Hereditas 33 1947.
- 90 VAARAMA A.
Experimental studies on the influence of D.D.T insecticide upon plant mitosis.
Hereditas 33 1947.
- 91 WIGGINS L.F.
The anhydrides of polyhydric alcohols.
J. Chem. Soc. 1946 p. 389.
- 92 WILSON E.
Experimental studies in cytology.
II. Arch.f. Entw. Mech. 13 1901.
- 93 YAMAHARA G.
Journ. of Fac. of Sc. Imp. Univ. Tokyo. III. Vol. 2 1927.
- 94 ZIEGLER
Biol. Zentralb. 23 1903.
- 95 G. DEYSSON et R. TRUHAUT
Contribution à l'étude de l'activité mitoclasique dans la série de la colchicine. Produits de la condensation de la colchicine avec la guanidine.
Ann. Pharm. françaises. 1956 Tome XIV p. 434.
- 96 G. DEYSSON et R. TRUHAUT.
Recherches sur l'activité antimitotique dans la série des uréthanes. Thiouréthanes cycliques.
Ann. Pharm. françaises. 1957 Tome XV p. 443.
-

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
<u>CHAPITRE I</u>	
Avant-propos	
Introduction	1
<u>CHAPITRE II</u>	
Plan de l'étude d'un composé : Techniques utilisées.	7
Expression des résultats.	7
<u>CHAPITRE III</u>	
Etude de l'action de divers alcools.	20
A - Alcool éthylique	20
B - Ethylène-glycol	31
C - Propylène-glycol	44
D - Glycérol.	57
<u>CHAPITRE IV</u>	
Etude de l'action de divers mouillants.	66
Introduction - Propriétés générales des mouillants.	69
A - Tween 80	73
B - Laurylsulfonate de Sodium	83
C - "Céquartyl A"	95
D - Action de diverses associations de mouillants.	104
<u>CHAPITRE V</u>	
Application des résultats obtenus à l'étude de diverses substances réputées insolubles.	113
<u>CHAPITRE VI</u>	
Conclusions Générales.	132
<u>Bibliographie</u>	135

